

**Histologische und autoradiographische
Untersuchungen zur Entwicklung diaplazentar
erzeugter Rattengliome**

- Eine Längsschnittuntersuchung unter besonderer
Berücksichtigung der Tumor-Frühstadien**

Vorgelegt

von

Friedrich Albert

aus

Lauf a. d. Pegnitz



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546211_0037

Aus der Neurochirurgischen Klinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof.Dr. W.Schiefer

Histologische und autoradiographische Untersuchungen
zur Entwicklung diaplazentar erzeugter Rattengliome
- Eine Längsschnittuntersuchung unter besonderer Berücksichtigung der Tumor-Frühstadien.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Friedrich ALBERT
aus
Lauf a.d.Pegnitz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Waldbaur
Korreferent: Prof. Dr. W. Schiefer
Tag der mündlichen Prüfung: 03.03.1980

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Einleitung

1. TEIL: L I T E R A T U R U N D G R U N D L A G E N

A / Einführung in die Problemstellung experimenteller Geschwulstforschung:

- I Geschwulstforschung allgemein
- II Experimentelle Neuroonkologie im besonderen
- III Theorien der Krebsentstehung
 - 1) Allgemeine Aspekte der Tumoriologie
 - 2) Historische Lösungsversuche zur Erklärung der Krebsentstehung
 - 3) Derzeit anerkannte Tumorthorien

B / Methodik der Tumorerzeugung im Nervensystem:

- I Ionisierende Strahlen
- II Viren
- III Chemische Stoffe

C / Experimentelle Tumorerzeugung im Nervensystem der Ratte durch Resorptivkanzerogene:

- I Allgemeine Aspekte:
 - 1) Besondere Eignung dieser Methode
 - 2) Phänomen der Organotropie
- II N-Nitrosoverbindungen als Resorptivkanzerogene:
 - 1) Historische Entwicklung
 - 2) Unterschiedliches Verhalten verschiedener neurotroper Resorptivkanzerogene
 - 3) Unterschiedliche Ergebnisse durch Variation der Methode
 - 4) MNH als Resorptivkanzerogen
- III Die experimentell erzeugten Tumoren:
 - 1) Biologisches Verhalten
 - 2) Frühstadien
 - 3) Vergleichbarkeit mit den neurogenen Geschwülsten des Menschen
- IV Diaplazentare Tumorerzeugung:
 - 1) Historische Entwicklung; besondere Eignung
 - 2) Theoretische Grundlagen
 - 3) Methodik
 - 4) Tumorbildung beim Muttertier
 - 5) Weitere, nicht-kanzerogene Wirkungen
- V Tumorinduktion außerhalb des Nervensystems
- VI Spontane Tumoren im Nervensystem der Ratte
- VII Experimentelle Tumorerzeugung im Nervensystem anderer Tierspezies

D / Bedeutung der tierexperimentellen Tumorerzeugung für die neuro-onkologische Forschung beim Menschen:

- I Erfordernis eines Tumormodells für vergleichende Untersuchungen
- II Vergleichbarkeit
- III Bedeutung chemischer Resorptivkanzerogene für die Entstehung neurogener Tumoren des Menschen

E / Autoradiographie:

- I Grundlagen
- II Anwendung in der experimentellen Neuroonkologie

2. TEIL: E I G E N E V E R S U C H E

A / Problemstellung

B / Versuchseinteilung

C / Material u. Methodik:

- I Versuchstiere
- II ÄNH-Applikation
- III Beobachtung der Tumorentwicklung; Tumorpräparation
- IV Anfertigung der histologischen Präparate. - Lichtmikroskopische Auswertung
- V Autoradiographische Untersuchungen

D / Ergebnisse:

- I Tumorentwicklung nach diaplazentarer ÄNH-Exposition
- II Lichtmikroskopische u. autoradiographische Auswertung der Hirnschnitte
 - 1) Zusammenfassende Darstellung der nachgewiesenen Proliferate
 - 2) Auswertung der mikroskopischen Befunde:
 - a) Tumor-Inzidenz b) Stadien-Einteilung c) Histologie, Metastasierung
 - d) Lokalisation e) Konfluenz
 - f) Früheste blastomatöse Proliferationen g) Bedeutung von Geschlecht u. Expositionszeitpunkt
 - 3) Auswertung der autoradiographischen Ergebnisse
- III Zusatzbefunde:
 - 1) Neurogene Tumoren außerhalb des Gehirns
 - 2) Tumöröse Neubildungen außerhalb des Nervensystems
 - 3) Tumoren bei n i c h t ÄNH-exponierten Ratten
 - 4) Intrakranielle Abszesse
 - 5) Mißbildungen

3. TEIL: D I S K U S S I O N

Z u s a m m e n f a s s u n g

Literaturverzeichnis

E i n l e i t u n g

Die Tumoren des N e r v e n s y s t e m s stellen mit einer Gesamt-mortalität von 4 - 5 Todesfällen pro 100 000 Einwohner/Jahr eine relativ kleine Gruppe unter den geschwulstbedingten Todesursachen dar. Die Inzidenz aller primären Hirntumoren wird von R.Ch.Behrend (in:P.J.Vinken u.G.W.Bruyn: Handbook of Clinical Neurology/Vol.16 - North Holland Publishing Comp.; Amsterdam, 1974) mit 10 ± 3 pro 100 000 Einw./Jahr angegeben. Wesentlich größere Bedeutung kommt den neurogenen Tumoren allerdings im frühen Kindesalter zu: Unter den neoplastischen Prozessen des Kleinkindes bilden Neuroblastome und intrakranielle Geschwülste mit zusammen rd. 22% nach den Leukämien (48%) bereits die zweitgrößte Gruppe (J.F.FRAUMENI jr. u. R.W.MILLER, 1969).

Ihre besondere Tragweite jedoch erlangen die Geschwülste des Nervensystems in einer anderen Hinsicht: Sie betreffen und schädigen d a s Organsystem, welches im Gegensatz zu den übrigen, rein biologischen Funktionen dienenden Organen B e w u ß t s e i n und i n d i v i d u e l l e E i g e n a r t des Menschen bestimmt. Keine andere Geschwulstart führt a priori zu einem derartig elementaren Eingriff in die Grundstrukturen des Menschen als bewußt erlebendes, denkendes und handelndes Wesen wie die im intrakraniellen Raum entwickelten tumorösen Neubildungen.

Diese besonders weitreichenden Konsequenzen der das Nervensystem befallenden Tumoren machen umso mehr eine möglichst genaue Erforschung ihrer ätiologischen und pathogenetischen Grundlagen erforderlich. Dies wird jedoch durch die anatomische Abgeschlossenheit sowie die hohe funktionell-strukturelle Differenzierung und Empfindlichkeit dieses Organsystems erschwert. Da für viele geschwulstbiologische und experimentell-therapeutische Fragestellungen eine direkte Untersuchung an menschlichen Tumoren nicht möglich ist, wurden frühzeitig Versuche zur tierexperimentellen Erzeugung neurogener Geschwülste unternommen.

Als besonders geeignet erwiesen hat sich dabei die Tumorinduktion im Nervensystem verschiedener Laboratoriumstiere (v.a. Ratten) mittels sog. "Resorptivkanzerogene". Das sind chemische Substanzen, welche nach systemischer Applikation eine selektiv organotrop-blastomogene Wirksam-

keit entfalten. Hiermit wurde es möglich, in großem Umfang neurogenes Tumormaterial für verschiedenste geschwulstbiologische, diagnostische und therapeutische Fragestellungen zur Verfügung zu stellen. Die tierexperimentellen Neoplasmen weisen außerdem eine weitgehende histomorphologische Übereinstimmung mit den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Tumoren auf.

Eine spezielle Form der neurotrophen Resorptivkanzerogenese ist die transplazentare Kanzerogenexposition des fetalen Versuchstiers. Diese zeichnet sich neben ihrer unkomplizierten Methodik durch eine besonders hohe Tumorzinzidenz aus. - Die im Tierversuch nachgewiesene erhöhte Empfindlichkeit des Nervensystems gegenüber kanzerogenen Reizen in der Perinatalperiode gibt Anlaß zu Überlegungen, welche Rolle eine derartige Expositionsform möglicherweise auch bei der Entstehung neurogener Geschwülste des Menschen spielen könnte.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, durch eine zeitliche Längsschnitt-Beobachtung die Entwicklung experimentell induzierter Hirntumoren bei Ratten näher zu beschreiben und Aussagen über mögliche Gesetzmäßigkeiten im fortschreitenden Geschwulstwachstum zu gewinnen. Besondere Aufmerksamkeit soll dabei den Neoplasma-Frühestadien und ihrer Weiterentwicklung zu raumfordernden Tumoren gewidmet werden. Hierzu werden die im Fetalstadium auf transplazentarem Wege mit Äthylnitrosoharnstoff exponierten Ratten in unterschiedlichem Alter getötet, ihre Gehirne werden in Stufenschnitte zerlegt und unter dem Lichtmikroskop auf blastomatöse Proliferate hin untersucht. Diese wiederum werden unter verschiedenen geschwulstspezifischen Gesichtspunkten (Inzidenz, Lokalisation, Histologie, Stadienzuordnung) näher analysiert. Durch Einbeziehung aller Altersstufen wird eine möglichst umfassende Langzeitbeobachtung der Hirntumorentwicklung angestrebt.

Die hierbei gewonnenen Ergebnisse können die bereits vorhandenen Kenntnisse insofern ergänzen, als sich die bisher vorliegende Literatur zu diesem Thema vorwiegend mit der sequentiellen Tumorentwicklung nur bei j ü n g e r e n Tieren befaßt.

Mit Hilfe der Autoradiographie soll schließlich das Proliferationsverhalten der experimentellen Hirntumoren quantitativ untersucht werden, außerdem soll Hinweisen auf Ursprung und Morphogenese der Tumoren nachgegangen werden.

1. TEIL: LITERATUR UND GRUNDLAGEN

A/ Einführung in die Problemstellung experimenteller Geschwulstforschung:

I. Geschwulstforschung allgemein:

Schon im Altertum waren die Geschwülste als eigenständige Erkrankungen bekannt und wurden als solche auch von den Heilkundigen dieser Zeit beschrieben: auf HIPPOKRATES (460-377 v.Chr.) geht die Bezeichnung "Carcinom" zurück und GALEN (131-201 n.Chr.) unterschied die physiologische Anschwellung (z.B. gravider Uterus) und die exzessive Überschußbildung (z.B. Callus luxurians) von den sogenannten "Tumores praeter naturam", den eigentlichen Geschwülsten.

Die experimentelle Geschwulstforschung beginnt nach unserer Kenntnis mit den Arbeiten des französischen Arztes B.PEYRILHE, der eine Überimpfung menschlicher Tumoren auf Hunde versuchte (1775). 1915 gelang den Japanern K.YAMAGIWA u. K.ICHIKAWA zum ersten Mal die experimentelle Erzeugung von Tumoren. Diese Autoren bepinselten Kaninchenohren regelmäßig mit Teer und induzierten damit Hautkarzinome. Sie folgten dabei sowohl den Beobachtungen des englischen Arztes P.POTT, welcher schon 140 Jahre vorher das gehäufte Auftreten von Skrotalkrebs bei Schornsteinfegern beschrieben hatte, als auch den daran anknüpfenden Erkenntnissen des deutschen Chirurgen R.VOLKMANN (1875), welcher den Teer als ein wirksames Agens bei der Entstehung von Hautkrebs herausgestellt hatte.

Aufbauend auf den erfolgreichen Arbeiten der beiden Japaner entwickelte sich rasch ein breites Experimentierfeld chemischer Tumorerzeugung. Daneben bedient sich die experimentelle Geschwulstforschung auch der schon seit langem bekannten kanzerogenen Potenz ionisierender Strahlen und einiger Viren.

Damit ist es mittlerweile möglich geworden, unter genau definierten Bedingungen o r g a n s p e z i f i s c h e Neubildungen zu erzeugen.

Diese T u m o r m o d e l l e sind eine wichtige Voraussetzung für Untersuchungen der

- a) Ätiologie und Pathogenese
- b) Morphologie (Histologie, Cytologie, Cytochemie, Zellkinetik, immunologisches Verhalten etc.)
- c) Therapiemöglichkeiten (Entwicklung neuer Operationstechniken, zytostatische oder Strahlen-Behandlung etc.)
- d) Diagnoseverfahren (Untersuchung der Anreicherung von Diagnostik-Isotopen u.a.)

Die Eignung eines bestimmten Tumormodells kann daran gemessen werden, inwieweit es folgende 5 Kriterien erfüllt (SWENBERG J.A. et al., 1972c):

- 1) Hohe Inzidenz der Tumorinduktion
- 2) Hohe Reproduzierbarkeit
- 3) Erzeugung ortsständiger Tumoren, deren Morphologie und Vorzugslokalisation den natürlich entstehenden Tumoren bei Mensch und Tier ähnlich sind.
- 4) Die Exposition des Zielorgans gegenüber dem Karzinogen soll auf natürlich-vorgegebenen Wegen erfolgen.
- 5) Es sollen solche tumor erzeugenden Agentien zur Anwendung kommen, mit welchen Mensch und Tier auch in ihrer natürlichen Umgebung Kontakt haben können.

Die Erzeugung von "Modelltumoren" in den verschiedensten Organen hat inzwischen wichtige Einblicke in das Wesen der Geschwülste sowie weitreichende Erkenntnisse in der Frage der Tumorphathogenese gebracht. Von noch größerer Bedeutung ist jedoch die Tatsache, daß damit die Möglichkeit gegeben ist, für viele chemische, physikalische und belebte Noxen eine kanzerogene Wirksamkeit nachzuweisen und expositionsprophylaktische Maßnahmen zu ergreifen. Hat man bisher der Krebs - B e h a n d l u n g das Hauptaugenmerk gewidmet, so wird die zukünftige Zielsetzung vor allem in der Krebs - V e r h ü t u n g liegen müssen.

II Experimentelle Neuroonkologie im besonderen:

Die Erforschung von Ätiologie und Pathogenese n e u r o g e n e r Tumoren gehörte lange Zeit zu den besonders schwierigen Problemen der Onkologie. Mit der Entwicklung moderner Untersuchungsmethoden zur Klärung geschwulstspezifischer Fragen (Morphologie, Biochemie, Zellkinetik, Transplantierbarkeit, immunologisches Verhalten, etc.) ging ein hoher Bedarf an geeignetem Tumormaterial einher (STAVROU D., 1971). Diesem Erfordernis stand jedoch die nur geringe Rate an spontanen Tumoren des Nervensystems (NS) gegenüber. So wird in einer Zusammenstellung bei JÄNISCH u. SCHREIBER (1969) die Rate an Spontantumoren im ZNS von Laboratoriumsnagetieren mit weit unter 1% liegend angegeben. FITZGERALD et al. (1974) fanden bei 7 803 Albino-Ratten spontane Tumoren des Gehirns und der Meningen in einer Häufigkeit von 0,44%. Bei MAWDESLEY-THOMAS u. NEWMAN (1974) betrug die Spontanrate in einer großen Sektionsreihe mit 41 000 Sprague-Dawley-Ratten nur 0,08% innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 5 Jahren.

In den vergangenen Jahren ist es gelungen, diesen Bedarf an beliebig oft und in großer Anzahl reproduzierbaren Tumoren zu decken, wobei vor allem auch eine gute Vergleichbarkeit mit spontan entstehenden Neoplasmen erzielt werden konnte. Wie später noch ausführlicher gezeigt werden soll, ist dies insbesondere durch die Einführung selektiv-neurotroper Resorptivkanzerogene möglich geworden.

Zunächst sei aber in einer kurzen Übersicht die bisherige Entwicklung der experimentellen Neuroonkologie dargestellt:

Die ersten Versuche zur experimentellen Erzeugung intrakranieller Tumoren reichen fast 50 Jahre zurück:

ROUSSY u. Mitarb. (1930) legten mit Steinkohlenteer durchtränkte Gazetampons auf die von den Meningen freigelegte Hirnoberfläche bei Kaninchen; abgesehen von toxischen Nekrosen kam es jedoch zu keiner Tumorinduktion, die Tiere verstarben nach maximal 42 Tagen.

CH. OBERLING, M. GUERIN u. P. GUERIN beschrieben im Jahr 1936 die Induktion von Hypophysenadenomen bei Ratten nach intrakranieller Applikation von Benzpyren in kristalliner Form bzw. ölgiger Lösung.

Durch intrazerebrale Implantation karzinogener Kohlenwasserstoffe in Form kleiner zylindrischer Pellets konnten verschiedene neuroepitheliale und mesodermale Tumoren am Applikationsort erzeugt werden (A. WEIL, 1938; J. H. PEERS, 1939 u. 1940). Mit der Verwendung des polyzyklischen Aromaten 20-Methylcholanthren war man in der Lage, in größeren Tierserien intrazerebrale Gliome und Sarkome zu erzeugen, welche in ihrem histologischen Verhalten durchaus mit den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Tumoren vergleichbar waren (A. M. SELIGMAN, M. J. SHEAR u. L. ALEXANDER, 1939; H. M. ZIMMERMAN u. H. ARNOLD, 1941; B. SCHIEFER, 1958 u. 1962).

Neben dieser direkten Tumorinduktion am Implantationsort der karzinogenen Substanz kam dann eine weitere Form chemischer Geschwulsterzeugung zur Anwendung, welche sich schließlich auf Grund verschiedener methodischer Vorteile mehr und mehr durchsetzte: die indirekte Tumorerzeugung mittels sogenannter "Resorptivkanzerogene". Deren Bezeichnung leitet sich davon ab, daß diese Substanzen ihre blastomogene Wirksamkeit in einer mit dem Applikationsort nicht identischen Lokalisation entfalten, wobei sie häufig eine spezifische Organotropie aufweisen. Als wichtige Vertreter dieser Stoffgruppe seien genannt: Derivate aromatischer Kohlenwasserstoffe.

tischer Kohlenwasserstoffe, Triazene, Hydrazine, N-Nitrosoverbindungen. Die zuletzt genannten N-Nitrosoverbindungen, unter ihnen vor allem die beiden Acyl-alkyl-nitrosamide Methyl- und Äthyl-nitroso-harnstoff (MNH bzw. ÄNH) erwiesen sich dabei als besonders geeignete Resorptivkanzerogene mit spezifisch neurotroper Wirksamkeit (H.DRUCKREY et al., 1964; 1965; 1967; 1970; W.JÄNISCH u.Mitarb., 1967; 1969).

Die Erzeugung neurogener Tumoren auf dem Wege der Resorptivkanzerogenese war bereits in früheren Jahren von verschiedenen Autoren beschrieben worden, jedoch beschränkten sich diese Beobachtungen nur auf Einzelfälle (E.VASQUEZ-LOPEZ, 1945; C.HOCH-LIGETI u.D.S.RUSSELL, 1950; K.C.SNELL u.Mitarb., 1961).

Anfang der 60-er Jahre erkannten dann H.DRUCKREY und seine Mitarbeiter die selektiv-neurotrope Wirksamkeit verschiedener N-Nitrosoverbindungen. Nachdem sie im Anschluß an die 1-malige Applikation von MNH bei adulten Ratten neben verschiedenen Organtumoren auch ein intrakraniell gewachsenes Neoplasma gefunden hatten - damals noch unerwartet (H.DRUCKREY et al. 1964a) - , untersuchten sie nun gezielt die neurotrop-blastomogene Aktivität dieser und ähnlicher Substanzen (H.DRUCKREY, 1964; 1967). Neben MNH gelang die Differenzierung verschiedener anderer N-Nitrosoverbindungen mit spezifischem Angriffspunkt am Nervensystem (H.DRUCKREY, 1967), wobei vor allem auch das Äthyl-Analoge zum MNH, der 1-Äthyl-1-nitrosoharnstoff (ÄNH), eine besondere Eignung zeigte. Diese Verbindung erwies sich als hochwirksam, wenn sie nach Verabreichung bei der trächtigen Ratte mit dem fetalen Organismus auf die placentare Wege in Berührung kam. Bei den in dieser Weise bereits intrauterin exponierten Nachkommen ist eine hohe Ausbeute an neurogenen Tumoren zu erzielen (H.DRUCKREY et al., 1966; 1970a; S.IVANKOVIC u.Mitarb., 1966; 1968; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970).

Durch diese Entwicklung sind wesentliche Fortschritte in der Erforschung neurogener Tumoren erzielt worden. Dies ist von umso größerer Bedeutung, als die Geschwülste des NS nicht nur in einer stetigen Zunahme begriffen sind - vor allem bei Kindern - , sondern auch auf Grund ihrer Lokalisation eine besondere Dimension innerhalb aller menschlichen Geschwülste einnehmen, da sie ein Organ schädigen, welches in besonderer Weise Bewußtsein und Wesen des Individuums prägt. Eine weitere Besonderheit ergibt sich aus der

morphologisch-funktionellen Eigentümlichkeit des Organsystems, von welchem diese Tumoren ihren Ausgang nehmen. Dessen im Vergleich zu anderen Organen wesentlich kompliziertere embryologische Entwicklung, seine strukturelle u. zelluläre Vielfalt und sein in den einzelnen Abschnitten unterschiedliches Verhalten gegenüber äußeren Einflüssen scheint die folgende C h a r a k t e r i s t i k a n e u r o g e n e r T u m o r e n ganz wesentlich mit zu bestimmen:

1. Große Variationsbreite des morphologischen Aufbaus und der Wachstumsrate
2. Besondere Neigung zu infiltrativem Wachstum
3. Nahezu völliges Fehlen einer extraneuralen Metastasierung
4. Enger Zusammenhang zwischen Tumorlokalisation und Tumortyp
5. Alters- und geschlechtsabhängige Tumorzinzidenz

(nach W.WECHSLER et al.,1969).

III Theorien der Krebsentstehung:

In den vorausgegangenen Kapiteln wurde ein kurzer Überblick über die historische Entwicklung und die Problemstellung der Geschwulstforschung im allgemeinen sowie der experimentellen Neuroonkologie im besonderen gegeben. - Wie aber hat man sich nun die Krebsentstehung vorzustellen ? Gibt es einen grundsätzlichen und allgemeingültigen Mechanismus, welcher am Anfang jedes Geschwulstwachstums steht ?

Viele medizinische und naturwissenschaftliche Fachdisziplinen haben bislang vergeblich sich bemüht, eine endgültige Antwort auf diese Frage zu finden. Die letzten und entscheidenden Vorgänge im Ablauf der Umwandlung einer "Normalzelle" zu unbegrenztem, k r e b s -
t y p i s c h e m Wachstum liegen nach wie vor im dunkeln. Aus der Vielzahl der inzwischen entwickelten Krebstheorien seien im folgenden einige der wichtigsten D e n k m o d e l l e herausgegriffen.

1) Allgemeine Aspekte der Tumoriologie:

Aus der empirischen Erfahrung und der im Experiment mittlerweile hinreichend bestätigten Beobachtung heraus kennt man 3 H a u p t -
g r u p p e n tumorerzeugender Agentien:

1. I o n i s i e r e n d e S t r a h l e n ("Schneeberger Lungenkrebs", bereits im 17. Jahrhundert beschrieben; Röntgen-Krebs als Berufskrankheit; Spätfolgen der Atombombenabwürfe in Japan)
2. V i r e n (Entdeckung der Virusnatur der Hühnerleukose durch ELLERMANN u.BANG, 1908; Beschreibung virusinduzierter Hühnersarkome durch ROUS,1910)

3. Krebs durch chemische Substanzen
(Skrotalkrebs bei Schornsteinfegern,
P.POTT 1775; Blasenkrebs bei Anilin-
arbeitern, L.REHN 1895; erstmalige
erfolgreiche Carcinomerzeugung im
Tierexperiment durch chronische Teer-
pinselung, K.JAMAGIWA u.K.ICHIKAWA 1915)

In die Gruppe krebserzeugender chemischer Stoffe gehören auch bestimm-
te natürlich-vorkommende Pflanzeninhaltsstoffe sowie mikrobielle und
parasitäre Stoffwechselprodukte: Cycasin aus tropischen Cy-
cadaceen-Arten (G.L.LAQUEUR u.M.SPATZ, 1968); Safrole, Be-
standteile verschiedener Pflanzenöle (BORNEFF, 1971, S.173); die von
einzelnen Schimmelpilzen gebildeten Aflatoxine (H.K.FRANK
1967, E.HANSSSEN 1969); Stoffwechselprodukte von Bilharzien,
Nematoden und Zystizernen, welche beim Menschen
und im Tierversuch tumorauslösend wirken können (BORNEFF, 1971, S.175).

2) Historische Lösungsversuche zur Erklärung der Krebsentstehung:

Die Frage, wie und warum überhaupt Tumoren entstehen, beschäftigte
bereits in der zweiten Hälfte des 19.Jahrhunderts viele Pathologen.
Beispielhaft seien hier die drei bedeutendsten Lösungsversuche ge-
nannt:

1. Virchows Reiztheorie (R.VIRCHOW:"Die krankhaften Geschwülste"1863):
V. wies darauf hin, daß Tumoren dort auftreten, wo chronische
Reize auf Zellen und Gewebe einwirken. Ihr weiteres Wachstum
sei später unabhängig von der Fortdauer des ursprünglichen
Reizes (zitiert nach H.HAMPERL: Lehrbuch der allgemeinen Pa-
thologie und pathologischen Anatomie, 28.Auflage, 1968).
2. Cohnheim' u.Ribbert'sche Theorie der Tumorentstehung auf dem
Boden von Mißbildungen und Keimversprengungen (J.COHNHEIM
1877, H.RIBBERT 1906).
3. "Infektionstheorie": Die großen Fortschritte der Mikrobiologie
am Ende des 19.Jahrhunderts veranlaßten viele Wissenschaftler
dazu, die Ursache von Krebsgeschwülsten in Infektionen (Bak-
terien, Pilze, Algen, Protozoen, tierische Parasiten) zu sehen
(zitiert nach R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER; 1970).

Diese Theorien sind notwendigerweise noch einer von der Empirie ge-
prägten, vorwiegend mechanistischen Vorstellung über die Ursachen
der Geschwulstentstehung verhaftet, waren der Pathologie zum dama-
ligen Zeitpunkt doch die Möglichkeiten experimenteller Krebsforschung
noch weitgehend verschlossen. So bezog sich VIRCHOW in seiner Reiz-

theorie z.B. ausdrücklich auf die damals schon lang bekannte Beobachtung, daß ein chronischer Reiz der Skrotalhaut verantwortlich sein müsse für die Entstehung des "Schornsteinfegerkrebses" (P.POTT, 1775). J.COHNHEIM (1877) und später H.RIEßBERT (1906) gründeten ihre Theorie der "Keimausschaltung" auf die Tatsache, daß sich bei angeborenen Geschwülsten nicht selten gleichzeitig Mißbildungen finden ließen. Die Grundlage für die Bildung eines Geschwulstkeimes sah COHNHEIM in der pathologischen Isolierung embryonaler Zellhaufen (Keimausschaltung); RIEßBERT ergänzte diese Theorie dahingehend, daß auch noch postnatale Gewebsverlagerungen ein Ausgangspunkt von Geschwülsten sein sollten.

Derzeit anerkannte Tumortheorien:

Nachdem es gelungen war, experimentelle Tumoren beliebig oft und unter reproduzierbaren Bedingungen zu erzeugen (K.JAMAGIWA u.K. ICHIKAWA, 1915), waren es vor allem die raschen Fortschritte auf dem Gebiete der Z e l l f o r s c h u n g und M o l e k u l a r b i o l o g i e, welche einen Einblick in den Ablauf der karzinogenen Umwandlung innerhalb der Zelle ermöglichten. - Um das Phänomen neoplastischen Wachstums verstehen zu können, muß man bis dorthin vordringen, wo es zeitlich und örtlich seinen Ausgang nimmt, d.h., man muß das Verhalten der Einzelzelle und die in ihr ablaufenden Vorgänge im Moment der karzinogenen Transformation zu beschreiben versuchen.

Bald zeigte es sich, daß bei der Aufklärung des Geschwulstproblems nicht die tumorerzeugenden Faktoren als solche, sondern mehr noch die Reaktionen der Zelle auf diese Faktoren in den Vordergrund gestellt werden mußten - wie H.LETTRE es formulierte: "Die Klärung des Krebsproblems ist demnach nicht so sehr bei dem krebserzeugenden Faktor, sondern bei der Zelle zu suchen" (zitiert aus R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER; 1970).

In den einzelnen Bereichen der experimentellen Geschwulstforschung ist mittlerweile ein nahezu unüberschaubares Ausmaß an Einzelkenntnissen gewonnen worden. Zahlreiche Tumortheorien und Denkmodelle versuchen eine Beschreibung der Wechselwirkungen zwischen tumorerzeugendem Agens und der Zelle.

Es würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, sollte hier eine ausführliche Darstellung auch nur der wichtigsten heute anerkannten

Krebstheorien versucht werden. Stark vereinfachend kann man deshalb das Wesen neoplastischer Transformation etwa folgendermaßen beschreiben: Es gibt eine *V i e l z a h l* an tumor erzeugenden Faktoren (z.B. ionisierende Strahlen, Viren, chemische Substanzen), aber es gibt vermutlich nur *e i n e g e m e i n s a m e* *K r e b s - u r s a c h e*, in welche alle anderen Ursachen einmünden (nach O. WARBURG). Jeder karzinogene Reiz (physikalisch, chemisch oder belebt) trifft am Ende auf den selben Zielkomplex in der Zelle (nach R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER; 1970). Geht man davon aus, daß für jedes geordnete Zellwachstum innerhalb des Gewebsverbandes ein *R e - g u l a t i o n s m e c h a n i s m u s* verantwortlich ist, welcher Zellteilung und -wachstum entsprechend den Bedürfnissen des Organverbandes und Gesamtorganismus initiiert und limitiert, so ist dieses Regulationssystem wohl als der geeignete logische Angriffspunkt im Ablauf der karzinogenen Umwandlung zu betrachten (H.C.PITOT, C.HEIDELBERGER; 1963).

Die Vorstellungen über die Art dieses Regulationssystems gehen noch auseinander. Verschiedenen zellulären Strukturen könnte eine Rolle in der Steuerung der Zellteilung zukommen. Zu denken wäre hier in erster Linie an

- a) die *C h r o m o s o m e n*, welche als Träger des Erbmateri als die spezifischen Eigenschaften der Zelle bestimmen,
- b) *R N A* - Moleküle (t-RNA, m-RNA), deren Funktion in der Expression chromosomaler Eigenschaften liegt,
- c) zytoplasmatische *P r o t e i n e*: "Repressoren" nach dem Modell von Jacob und Monod (F.JACOB u.J.MONOD, 1961),
- d) *z y t o p l a s m a t i s c h e F a k t o r e n*, welche die Realisierung der nukleären Genom-Eigenschaften steuern (P.DUSTIN, 1972),
- e) gewebsspezifische Hemmfaktoren, sog. *C h a l o n e*, welche von den Zellen eines Gewebsverbandes gebildet werden und nach dem Prinzip der negativen Rückkoppelung bei Erreichen der funktionsadäquaten Zellzahl hemmend auf die weitere Teilung wirken (W.S.BULLOUGH, zitiert aus R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER; 1970).

Dementsprechend wurden verschiedene Krebstheorien entwickelt, die jeweils eines dieser Regulationssysteme in den Mittelpunkt stellen:

- a) Veränderungen am Genom im Sinne einer somatischen Mutation, ausgelöst durch energiereiche Strahlen (Deletion) oder chemische Substanzen (z.B. falsche Basenpaarung nach Alkylierung chromosomaler Purinbasen). - Sie finden ihren Ausdruck in der " M u t a t i o n s t h e o r i e " (K.H.BAUER, 1928). Ein besonderer Zusammenhang zwischen chromosomaler Mutation und Tumorgenese wird von R.J.HUEBNER u.G.J.TODARO (1969) hergestellt. Danach sollen bestimmte Abschnitte - sog."Onkogene" - im Genom von Tumoviren für die Transformation der virus-befallenen Zelle verantwortlich sein. Ja, sie sehen darin gleichsam das gemeinsame Grundprinzip allen neoplastischen Wachstums und postulieren, daß andere krebserzeugende Reize lediglich durch V i r u s a k t i v i e r u n g karzinogen wirken. Die Bedeutung dieser Theorie wird von verschiedenen Autoren bekräftigt (C.HEIDELBERGER, 1970; P.L.LANTOS, 1974).
- b) Für andere Autoren liegt die Ursache karzinogener Transformation in der Modifikation zellulärer Ribonukleinsäuren (t-RNA, m-RNA), in deren Gefolge eine Änderung grundlegender, kerngesteuerter Zelleigenschaften, wie z.B. des Teilungsverhaltens, auftreten würde (P.N.MAGEE, 1969).
- c) H.C.PITOT u.C.HEIDELBERGER sehen die Ursache für die Krebsentstehung in der I n a k t i v i e r u n g zytoplasmatischer Proteine, welche entsprechend dem Modell von JACOB u. MONOD (1961) als sog. " R e p r e s s o r e n " die Genaktivität und somit auch die genetisch festgelegten Mechanismen der Zellteilung regulieren (H.C.PITOT u.C.HEIDELBERGER, 1963; C.HEIDELBERGER, 1970).
- d) Alle somatischen Zellen eines Organismus tragen in ihrem Kern das gleiche Genom. Dennoch wird in jeder Zelle, entsprechend ihren spezifischen Funktionen, nur ein bestimmter Teil dieser Genomeigenschaften realisiert. Experimentell konnte nachgewiesen werden, daß für die damit erforderlich werdende Steuerung der phänotypischen Genomrealisation z y t o p l a s m a t i s c h e F a k t o r e n verantwortlich sind (H.HARRIS, 1970; R.G.MCKINNELL u.Mitarb., 1969 - zitiert aus R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER; 1970). Daraus leitet P.DUSTIN den Schluß ab, daß neoplastisches Wachstum hauptsächlich mit V e r ä n d e r u n g e n i m Z y t o p l a s m a zusammenhängt. Eine wichtige Rolle soll dabei

auch verschiedenen Modifikationen in den Eigenschaften der Zelloberfläche zukommen (P.DUSTIN, 1972).

- e) Die Chalon - Theorie der Krebsentstehung geht davon aus, daß die Teilungsaktivität der Zellen in einem Gewebsverband der Steuerung durch bestimmte Hemmfaktoren, sog. "Chalone", unterliegt. Diese werden nach Aufbau einer funktionsgerechten Zellpopulation von den Zellen selbst gebildet und wirken im Sinne einer negativen Rückkoppelung hemmend auf deren weiteres Teilungsverhalten ein (W.S.BULLOUGH, 1967 - zitiert aus R.SÜSS, V.KINZEL u.J.D.SCRIBNER, 1970). Ungesteuertes, neoplastisches Wachstum könnte dabei zwei verschiedene Ursachen haben:

1. Verlust von Chalonen
2. Verlust der Reaktionsfähigkeit gegenüber Chalonen hervorgerufen durch Karzinogeneinwirkung, z.B. chemisch-bedingte Molekülalteration.

Die meisten Tumorthorien gehen von der Transformation der Normalzelle in eine Tumorzelle aus.

Daneben gibt es aber auch die Vorstellung, daß ein blastomogener Reiz lediglich präexistente Tumorzellen selektioniert oder aber Körperzellen vor der normalen Wachstumsregulation innerhalb des Gewebsverbandes isoliert (R.SÜSS, V.KINZEL, J.D. SCRIBNER, 1970).

Abschließend seien noch einige grundsätzliche Kennzeichen der Karzinogenese genannt:

1. Karzinogenese ist ein irreversibler Vorgang
2. Karzinogenese erfordert Zellteilungs - Aktivität (M.F.RAJEWSKY, 1972 u.1972a; W.OEHLERT, 1973; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974).
3. Es gibt keine untere Schwellendosis für die Wirksamkeit eines Karzinogens. - Bei Applikation einer sehr niedrigen Karzinogendosis kann jedoch die Latenzzeit der Tumormanifestation die Lebenserwartung des Versuchstieres übersteigen (R.SÜSS, V.KINZEL, J.D.SCRIBNER).

In dem Kapitel über die Organotropie der Resorptivkanzerogene ^{*)} wird noch einmal genauer auf molekulare Aspekte der chemischen Karzinogenese eingegangen werden.

^{*)} s.S.22 ff.

B/ Methoden der Tumorerzeugung im Nervensystem:

Experimentelle Tumoren des NS lassen sich grundsätzlich auf 3 verschiedene Arten erzeugen:

durch	I	I o n i s i e r e n d e	S t r a h l e n
	II	V i r e n	
	III	C h e m i s c h e	S t o f f e

I Ionisierende Strahlen:

Von mehreren Autoren wurde die Möglichkeit einer Geschwulsterzeugung im NS durch ionisierende Strahlen beschrieben. Als erstem gelang A.JENTZER (1959) die Induktion von Glioblastomen nach intrakranieller Implantation von Cobalt 60-Strahlern beim Kaninchen. Weitere Versuche mit Cobalt 60 (J.N.DIMANT u.Mitarb., 1965), radioaktivem Gold (W.JÄNISCH u.M.KIRSCH, 1967) und Röntgenstrahlen (N.O.BERG u.M.LINDGREN, 1958; D.SCHMÄHL u.H.OSSWALD, 1970) bewiesen jedoch eher die nur bedingte Eignung dieser Methode, welche vor allem durch eine hohe Latenzzeit und niedrige Induktionsraten gekennzeichnet ist. Außerdem wies W.A.HARDER (1967) darauf hin, daß die eingetretenen Gliaveränderungen mehr im Sinne einer r e a k - t i v e n Zellwucherung - im Anschluß an Nekroseschäden - gedeutet werden müßten, als daß sie echten Gliomen entsprächen. Etwas günstigere Resultate wurden von W.HAYMAKER u.Mitarb. (1972) beschrieben, welche mit der Ganzkörperbestrahlung von Affen in ca. 25% multifforme Glioblastome erzeugen konnten.

Diesen experimentellen Arbeiten entsprechen auf Seiten der menschlichen Neuroonkologie nur ganz vereinzelte Beobachtungen von strahleninduziertem Geschwulstwachstum; diese wiederum beschränken sich auf rein mesodermale Tumoren. So berichten S.WENDE (1962) und K.J. ZÜLCH (1953) über Sarkome der Dura nach postoperativer Röntgenbestrahlung.

II Viren:

Wesentlich bessere Ergebnisse konnten indessen durch den Einsatz tumorerzeugender Viren erzielt werden. 1936 zum ersten Male von E. VASQUEZ-LOPEZ beschrieben, der durch intrazerebrale Inokulation von Rous Sarcoma-Viren bei Hühnern Gehirnsarkome induzierte, gelang bei verschiedenen Laboratoriumstieren die Erzeugung vor allem auch neuroektodermaler Tumoren: G l i o m e bei Goldhamstern (G.F.RABOTTI u. W.A.RAINE, 1964), A s t r o z y t o m e bei Hunden (G.F.RABOTTI, 1966)

Ependymome bei Goldhamstern (P.GERBER u.R.L.KIRSCHSTEIN, 1962) und Glioblastome bei Ratten (R.RIBACCHI u.A. GIRALDO, 1966). Für mehrere Virusgruppen ließ sich dabei eine neuro-onkogene Wirksamkeit nachweisen: Rous-, Polyoma-, SV-, MS- u. Adenoviren (Typ 12). Besonders auffallend ist die Tatsache, daß sich die durch Virusapplikation erzeugten Hirngeschwülste außerordentlich rasch entwickeln können. So sind vor allem Sarkome bereits wenige Tage nach Virusinokulation histologisch faßbar. Dieses Phänomen zum einen, zum andern die Beobachtung, daß in manchen chemisch-induzierten Tumoren des NS Viruspartikel mikroskopisch nachweisbar sind (H.M.ZIMMERMAN, 1967 u.1969), veranlaßten R.J.HUEBNER u.G.J.TODARO (1969) zu der Hypothese, daß alle Tumoren letztlich auf der Wirkung onkogener Viren beruhten und alle anderen krebserzeugenden Reize lediglich in die Reihe der virusaktivierenden Faktoren einzuordnen seien. Diese Theorie wird auch durch die experimentellen Befunde anderer Autoren gestützt (R.H.DENLINGER et al., 1974; P.L.LANTOS, 1974). B.C.CASTO u.J.A.DIPAOLLO (1973) sehen ebenfalls eine enge Verknüpfung zwischen chemischen Karzinogenen und onkogenen Viren und vertreten die Ansicht, daß beide Gruppen *additiv* wirksam sein könnten:

- 1) Stimulation der Zellteilung durch Viren kann zur Realisation latenter, chemisch-induzierter Tumorzell-Eigenschaften führen.
- 2) Chemische Karzinogene verändern die Zell-DNS und schaffen zusätzliche Orte, an denen virales Genmaterial in Zell-Chromosomen eingebaut werden kann.

Der onkogenen Potenz einiger im Tierversuch wirksamen Virusarten kommt möglicherweise auch für die *menschliche* Neuro-pathologie eine besondere Bedeutung zu. So konnten Hinweise auf Zusammenhänge zwischen Virusinfektionen und der Entstehung bestimmter Tumorarten des ZNS beim Menschen von A.S.RABSON u.R.L.KIRSCHSTEIN (1960), W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER (1966) und Y.HOSOBUCHI (1970) gefunden werden. G.F.RABOTTI (1972) vertritt die Ansicht, daß die meisten Hirntumorarten bei Mensch und Tier durch Viren hervorgerufen werden können.

III Chemische Stoffe:

1) Substanzgruppen:

Gemessen an der Vielzahl der in anderen Organen erprobten chemischen Karzinogene, ist die Auswahl der zur experimentellen Erzeugung neurogener Geschwülste geeigneten Substanzen vergleichsweise gering. Zur Anwendung kommen Verbindungen aus folgenden Stoffgruppen:

aromatische Kohlenwasserstoffe (Benzpyren, Methylcholanthren,
Dibenzanthrazen),
Derivate aromatischer Kohlenwasserstoffe (Fluorenylazetamid,
Oxychinolinbenzoat, Aminoquinolinmethoazetat),
N-Nitrosoverbindungen (Äthyl- u. Methylnitrosoharnstoff,
Dimethyl- u. Trimethylnitrosoharnstoff),
Hydrazine und Triazene,
Azo- und Azoxyäthan.

Bei der experimentellen Tumorerzeugung im NS mittels chemischer Substanzen lassen sich z w e i grundsätzlich verschiedene Methoden unterscheiden:

1. die lokale I m p l a n t a t i o n in Form von P e l l e t s .
2. die s y s t e m i s c h e Applikation unter Verwendung sog. R e s o r p t i v k a n z e r o g e n e .

2) Pellet - Methode:

Diese Methode, bei welcher aromatische Kohlenwasserstoffe ^{*)} d i - r e k t in die Nervensubstanz implantiert werden, hat seit ihrer erstmaligen Beschreibung (F.W.ILFELD, 1936; A.WEIL, 1938) in einer großen Zahl von Versuchen ihre gute Eignung unter Beweis gestellt (siehe Zusammenstellung bei W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969/S. 26). Besonders häufige Verwendung fand dabei die von A.M.SELIGMAN, M.J.SHEAR u.L.ALEXANDER (1939) beschriebene Versuchsanordnung, in welcher der kanzerogene Kohlenwasserstoff zu kleinen zylindrischen Pellets von etwa 1,5 mm Länge und 1 mm Durchmesser geschmolzen und ca. 4 mm tief in die Hirnsubstanz eingeführt wird (s.a.J.H.PEERS, 1939 u.1940; W.C.RUSSELL, 1945; B.SCHIEFER, 1958 u.1962). Diese Versuche wurden hauptsächlich mit Mäusen durchgeführt, wohingegen sich Ratten als weniger geeignet erwiesen (S.KAWAI, 1959; Y.ISHIDA et al., 1963).

Die mit der beschriebenen Versuchsanordnung, v.a. unter Verwendung des polyzyklischen Aromaten 20 - M e t h y l c h o l a n t h r e n , erzeugten intracerebralen Sarkome und Gliome waren histologisch durchaus vergleichbar mit den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Tumoren. Als günstig erwies sich auch die hohe Reproduzierbarkeit dieser Methode, die Induktionsrate wurde unterschiedlich mit 20 % bis 60 % angegeben.

^{*)} 1,2,5,6-Dibenzanthrazen, 3,4-Benzpyren, 20-Methylcholanthren

H.M.ZIMMERMAN u.H.ARNOLD (1941 u.1955) beobachteten einen Zusammenhang zwischen Implantationsort und Tumortyp: Bei Implantation ins Cerebellum bildeten sich bevorzugt Medulloblastome (H.M. ZIMMERMAN, 1967), bei Lokalisation im Ventrikelbereich Ependymome, Pellets im Hirnstamm erzeugten vorwiegend polare Spongioblastome, im Marklager multifforme Glioblastome - seltener Astrozytome -, im Okzipitallappen Oligodendrogliome. - Von anderen Autoren konnten diese Befunde jedoch nicht bestätigt werden (B.SCHIEFER, 1962; W.JÄNISCH, 1966). B.SCHIEFER bezweifelt, daß in dem kleinen Mäusegehirn eine solch genaue Lokalisation des Pellets überhaupt möglich ist.

Der Versuch einer Tumorerzeugung auch im peripheren Nervensystem (PNS) durch lokale Kanzerogenimplantation schlug fehl, es konnten nur mesodermale Malignome des umgebenden Nervenbegleitgewebes induziert werden (U.RADKE u.B.BINGAS; zit. aus K.J.ZÜLCH, 1969).

Zwar war es mit der Pellet-Technik zum ersten Male gelungen, Tumoren des ZNS beliebig oft und in frei bestimmbarer Lokalisation zu erzeugen sowie an diesen Tumormodellen formal-pathogenetische und histologische Studien zu betreiben; auch hatte damit ein bis dahin noch weitgehend unerforschtes Gebiet der experimentellen Onkologie wesentliche Impulse erfahren. Dennoch ist diese Methode mit einigen schwerwiegenden Nachteilen behaftet und kann deshalb nur mit Vorbehalt in der vergleichenden Neuroonkologie angewandt werden: Die Implantation einer karzinogenen Substanz ist ein künstlicher Behelf, der die wirklichen und bis dato noch weitgehend unbekannten Umstände, welche bei Mensch und Tier zur Entwicklung von Gehirntumoren führen, nicht nachvollzieht. Zusätzlich werden durch das "brutale" Implantationstrauma (K.J.ZÜLCH, 1969), die damit verbundene Entzündung und durch die Reaktionen der Umgebung auf den Fremdkörper zusätzliche Veränderungen geschaffen, welche die eigentliche Antwort des Hirngewebes auf den kanzerogenen Reiz beeinflussen und pathogenetische sowie histologische Untersuchungen komplizieren. Außerdem ist auch mit einer Versprengung von Epidermiszellen in die Implantationshöhle zu rechnen, welche ihrerseits einer Kanzerisierung unterliegen können (B.SCHIEFER, 1962).

3) Resorptivkanzerogene:

Für ein ideales Tumormodell eignet sich am besten ein solches kanzerogenes Agens, welches bei natürlicher Inokulationsform (v.a. Ingestion, Inhalation) zuverlässig, d.h. beliebig oft reproduzierbar, mit hoher Inzidenz, möglichst kurzer Latenz und organspezifisch tumorerzeugend wirksam ist. Weiterhin sollte dieses Agens in gleicher oder ähnlicher Form auch in der natürlichen Umwelt vorhanden sein - eine Forderung, welche hinsichtlich ätiologischer Fragestellungen von Bedeutung ist.

In den vergangenen 20 Jahren fand man eine große Zahl chemischer Substanzen, welche dieser Idealforderung weitgehend gerecht werden. Diese Substanzen tragen die Bezeichnung "Resorptivkanzerogene", da sie ihre blastomogene Wirkung an einer vom Applikationsort verschiedenen Stelle entfalten, wobei sie nicht selten eine spezifische Organotropie aufweisen. (Anmerkung: In Abhängigkeit von der Zerfallsgeschwindigkeit in ihre kanzerogen-aktive Wirkform können sie allerdings auch am Applikationsort selbst Tumoren induzieren: z.B. lokales Sarkom nach subkutaner Injektion von Acyl-alkylnitrosamiden (H.DRUCKREY et al., 1967).)

Während die Erzeugung neurogener Tumoren mit den Mitteln der Resorptivkanzerogenese vor 1964 nur in einigen wenigen Fällen beschrieben worden war (E.VASQUEZ-LOPEZ, 1945; C.HOCH-LIGETI u.D.S.RUSSELL, 1950; K.C.SNELL u.Mitarb., 1961), hatte seit der Entdeckung der hohen kanzerogenen Potenz des Dimethylnitrosamins durch P.N.BARNES (1956) bereits vorher eine extensive Entwicklung chemischer Tumorerzeugung in äußeren neuronalen Organen eingesetzt.

Die gezielte Induktion neurogener Tumoren begann etwa in der Mitte der 60-er Jahre. Nach der Erzeugung von Neuroepitheliomen der Regio olfactoria beim Hamster mit Diäthylnitrosamin (K.M.D.HERROLD, 1964), waren es besonders H.DRUCKREY und seine Mitarbeiter, welche die neurotrope Wirksamkeit verschiedener alkylierender Stickstoffverbindungen erkannten und erfolgreich einsetzen konnten: Hydrazine (H.DRUCKREY et al., 1966a), Triazine (H.DRUCKREY et al., 1967a), Az- u. Azoxyäthan (H.DRUCKREY et al. 1968). - Als besonders geeignet erwiesen sich einige N-Nitrosoverbindungen. Nachdem DRUCKREY u.Mitarbeiter im Anschluß an die einmalige i.v.-Gabe von N-Methyl-N-nitrosoharnstoff (MNH) bei adulten Ratten neben verschiedenen außerneuralen Tumoren auch einen intrakraniell lokalisierten Tumor

gefunden hatten - damals noch unerwartet (H.DRUCKREY et al., 1964a)-, untersuchten sie nun gezielt die neurotrop-karzinogene Wirksamkeit dieser und verwandter Substanzen. Neben MNH fanden sie verschiedene andere N-Nitrosoverbindungen mit einem spezifischen Angriffspunkt im NS (H.DRUCKREY et al., 1967), wobei v.a. auch das Äthyl-Homostoff (ÄNH), seine besondere Eignung als neurotropes Resorptivkarzinogen zeigte.

In der Folge erfuhr der Einsatz hauptsächlich dieser beiden Acylalkyl-nitrosamide eine bedeutende Fortentwicklung. Bald hatte man eine ganze Reihe unterschiedlicher Versuchsanordnungen erarbeitet, die es gestatteten, durch Variation der Darreichungsform und Applikationsdosis sowie durch Modifikation von Zeitpunkt und Dauer der Exposition einen Einfluß auf Inzidenz, Entwicklungslatenz und Spektrum der induzierten neurogenen Geschwülste zu nehmen.

Das methodische Vorgehen der Resorptivkarzinogenese im NS läßt sich grundsätzlich in zwei verschiedene Prinzipien unterteilen:

1. Postnatale Exposition: der Kontakt mit dem Karzinogen erfolgt direkt und für jedes Versuchstier getrennt.
2. Praenatale, i.e. diaplazentare Exposition: das Karzinogen erreicht das Versuchstier - in der Regel mehrere Tiere gleichzeitig - erst auf dem Umweg über den mütterlichen Organismus. Im Muttertier selbst kommt es nur selten zu einer Tumorentwicklung (diese betrifft v.a. den Genitaltrakt und die Brustdrüsen, selten auch das Nervensystem (V.A.ALEXANDROV, 1969; H. DRUCKREY, 1973a; L.TOMATIS et al., 1977)).

Tabelle 1 zeigt eine Zusammenstellung der unterschiedlicher Versuchsanordnungen (bei Verwendung von MNH u. ÄNH), jeweils mit Hinweis auf Originalarbeiten:

Tab.1: Versuchsanordnungen der experimentellen
Resorptivkanzerogenese im NS:

postnatale Exposition	diaparente Exposition
<u>intravenöse Appl.:</u> <u>Einzel</u>dos.: neugeb.u.junge Ratten...1,2 adulte Ratten...3,4 <u>chronische</u> Appl.: junge Ratten...2,5,6,7,10 adulte Ratten...4,8,9; Kaninchen...11 <u>perorale Appl.:</u> <u>Einzel</u>dos.: ... 1 <u>chronische</u> Appl.: ... 4,5,12,13,14 <u>Karzinogen-Vorstufen</u>: ... 12,15 <u>subkutane Appl.:</u> <u>Einzel</u>dos.: ... 1,16,17,18,19 <u>chronische</u> Appl.: ... 14 <u>intraperitoneale Appl.:</u> ... 20,21,22 <u>intracerebrale Appl.:</u> ... 10,23	<u>intravenöse Appl.:</u> <u>Einzel</u>dos.: ... 24,25,26,27 <u>Variation:</u> Leber, Appl.-Zeitpunkt...28,29 Rattenstamm ... 30 <u>perorale Appl.:</u> ... 28 <u>Karzinogen-Vorstufen</u> ... 31,32,33 <u>intraperitoneale Appl.:</u> ... 25 <u>subkutane Appl.:</u> ... 25,34

- | | |
|--|--|
| 1 ... Druckrey H., B. Schagen, S. Ivankovic 1970/ 18 ... | 19 ... Grossi-Paoletti E. et al. 1972 |
| 2 ... Jänisch W., D. Schreiber 1969 | 20 ... Thomas C. et al. 1968 |
| 3 ... Druckrey H. et al. 1964 | 21 ... Githert H. et al. 1968 |
| 4 ... Druckrey H., R. Preussmann et al. 1967 | 22 ... Vesselinovitch S.D., L.S. Lombardi 1971 |
| 5 ... Stroobrandt G., J. M. Brucher 1968 | 23 ... Kelly M.B. et al. 1968 |
| 6 ... Sweborg J.A. et al. 1972c) | 24 ... Ivankovic S. et al. 1966 |
| 7 ... Ishida Y. et al. 1975 | 25 ... Wechsler W. et al. 1969 |
| 8 ... Druckrey H. et al. 1965 | 26 ... Grossi-Paoletti E. et al. 1970 |
| 9 ... Jänisch W. et al. 1967 | 27 ... Druckrey H. et al. 1966 |
| 10 ... Waldbaur H. et al. 1975 | 28 ... Ivankovic S., H. Druckrey 1968 |
| 11 ... Kleihues P. et al. 1970 b) | 29 ... Alexandrov V.A. 1969 |
| 12 ... Thomas C. et al. 1967 | 30 ... Druckrey H. et al. 1970 a) |
| 13 ... Jänisch W. et al. 1970 | 31 ... Osake G. et al. 1972 |
| 14 ... Stavrou D. 1971 | 32 ... |
| 15 ... Alexandrov V.A., W. Jänisch 1971 | 33 ... |
| 16 ... Marok R. et al. 1972 | 34 ... |
| 17 ... Githert H., R. Druckrey 1974 | |

C/ Experimentelle Tumorerzeugung im Nervensystem der Ratte durch Resorptivkanzerogene:

I Allgemeine Aspekte:

1) Besondere Eignung dieser Methode:

Wie bereits im vorhergehenden Kapitel ausgeführt wurde, hat sich die Applikation chemischer Resorptivkanzerogene bei der Ratte als besonders geeignet erwiesen. Seit ihrer erstmaligen Beschreibung vor nunmehr 15 Jahren (H. DRUCKREY et al., 1964a) konnte in zahlreichen Arbeiten gezeigt werden, daß diese Versuchsanordnung den Anforderungen an ein neuroonkologisches Tumormodell hinsichtlich

Inzidenz,
Reproduzierbarkeit,
Relevanz und
Vergleichbarkeit mit den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Tumoren

in besonderer Weise gerecht wird:

- a) Inzidenz: Sowohl die diaplazentare als auch die postnatale Kanzerogen-Exposition ergibt (in Abhängigkeit von Substanz, Dosis und Applikations-Zeitpunkt) Induktionsraten neurogener Geschwülste von 90 - 100% (H.DRUCKREY et al., 1970 u. 1970a; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975; R.WARZOK et al., 1977).
- b) Reproduzierbarkeit: Die übereinstimmenden Ergebnisse zahlreicher Autoren bestätigen das hohe Maß an Reproduzierbarkeit, welches nicht zuletzt auf eine unkomplizierte Versuchstechnik und geringe Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen zurückzuführen ist.
- c) Relevanz: Die verwendeten Resorptivkanzerogene - v.a. MNH, ÄNH und deren Derivate - sind chemisch einfach gebaute Substanzen, deren Existenz in der natürlichen und industriellen Umwelt von Mensch und Tier bekannt ist. Sie gelten deshalb auch außerhalb des Tierexperiments als relevante kanzerogene Faktoren (T.F.MANCUSO, 1963; G.L.LAQUEUR u.M.SPATZ, 1968; G.OSSKE, 1972; J.SANDER, 1973).
- d) Vergleichbarkeit mit neurogenen Geschwülsten beim Menschen:
Mit nur wenigen Ausnahmen (K.J.ZÜLCH, 1969; H.D.MENNEL u. K.J.ZÜLCH, 1972) wird in der Literatur ein hohes Maß an histopathologischer Übereinstimmung zwischen den experimentell erzeugten Tumoren und den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Geschwülsten hervorgehoben (C.THOMAS u.G.KERSTING, 1964; G.KERSTING, 1965; G.STROOBANDT u.J.M.BRUCHER, 1968; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970; W.WECHSLER et al., 1969). Die Vergleichbarkeit bezieht sich dabei v.a. auf den feingeweblichen Aufbau und auf Ähnlichkeiten in den cytochemischen Eigenschaften der Tumorzellen, weniger jedoch auf ihr biologisches Verhalten (W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969; D.STAVROU, 1971; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972). So wird in diesem Zusammenhang von

den meisten Autoren einschränkend auf die in aller Regel höhere Malignität der tierexperimentellen Geschwülste hingewiesen.

Schließlich seien noch zwei weitere Vorzüge dieser Versuchsanordnung (i.e. Resorptivkanzerogenese im Rattenversuch) genannt:

- 1/ Die gute T r a n s p l a n t i e r b a r k e i t der erzeugten Tumoren. - Für spezielle Fragestellungen (z.B. Chemotherapie-Versuche, Testung radioaktiver Isotopen zu diagnostischen Zwecken, biochemische und immunologische Untersuchungen) benötigt man Modelltumoren, welche innerhalb kurzer Zeit in großer Zahl und bei möglichst identischer Morphologie verfügbar sein müssen. - Diesen Anforderungen wird v.a. der Transplantationsversuch gerecht (J.C.LEE, 1968; P.BENDA et al., 1971; H.H. SCHMIDDEK et al., 1971). Es gelang der Nachweis, daß die durch Resorptivkanzerogenese erzeugten Rattenglione für Transplantationszwecke besonders geeignet sind, da sie sowohl eine hohe Angehrate aufweisen (bis 100 %) als auch über viele Generationen hinweg ihren ursprünglichen histologischen Aufbau beibehalten können (H.WALDBAUR et al., 1975).
- 2/ Die R a t t e a l s V e r s u c h s t i e r bringt Vorteile in mehrererlei Hinsicht mit sich:
 - a) Sie ist - bei hoher Fruchtbarkeit - ein unkompliziertes Laboratoriumstier sowohl im Hinblick auf Unterhaltskosten als auch auf Pflege und Unterbringungsmöglichkeiten.
 - b) Bei sachgemäßer Pflege ist sie wenig anfällig gegenüber Krankheiten.
 - c) Es stehen Inzuchtstämme mit genau definierten Erbeigenschaften zur Verfügung (H.DRUCKREY et al., 1962), bestimmte Stämme lassen in gewissem Umfang die Disposition für ein spezifisches Tumorspektrum erkennen (H.DRUCKREY et al., 1970a).
 - d) Spezielle Versuchstechniken lassen sich routinemäßig anwenden: intravenöse und intrathekale Injektion sowie Punktion der Carotiden; intracerebrale Implantation (wegen des ausreichend großen Gehirns);
 - e) Die besondere Wirksamkeit der Resorptivkanzerogene ist speziell bei Ratten hinreichend erprobt.

2) Phänomen der Organotropie v.a. des Neurotropismus:

Neben ihrer hohen Tumor-Induktionsrate zeichnen sich die Resorptivkanzerogene dadurch aus, daß sie ihre geschwulsterzeugende Wirksamkeit nicht im gesamten Organismus gleichmäßig entfalten, sondern bestimmte Organe und Organgruppen bevorzugen. Man spricht in diesem Zusammenhang von O r g a n o t r o p i e. Im Hinblick auf die Thematik dieser Arbeit sei der selektiven Erzeugung neurogener Tumoren, dem N e u r o t r o p i s m u s, besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Nach einzelnen Hinweisen auf gewisse neurotrope Eigenschaften der Fluorenylazetamid-Verbindungen (E.VASQUEZ-LOPEZ, 1945; K.C.SNELL u.Mitarb., 1961) gelang der Arbeitsgruppe von H.DRUCKREY der systematische Nachweis einer selektiv-neurotrophen Wirksamkeit des Methylnitrosoharnstoffs (H.DRUCKREY et al., 1964 u. 1965), später des Äthylnitrosoharnstoffs (H.DRUCKREY et al., 1966) bzw. einiger weiterer N-Nitrosoverbindungen (H.DRUCKREY et al., 1967).

a. Empirische Werte:

Es konnte gezeigt werden, daß die Organotropie der chemischen Resorptivkanzerogene im allgemeinen und ihre neurotrophen Eigenschaften im besonderen durch verschiedene Faktoren m o d i f i z i e r e n d beeinflußt werden:

1/ Chemische Struktur des Kanzerogens:

Die systematische Untersuchung der kanzerogenen Potenz von 65 N-Nitrosoverbindungen an mehr als 1000 Ratten ergab deutliche substanz-abhängige Unterschiede in der Organverteilung der erzeugten Tumoren (H.DRUCKREY, 1967): So konnte experimentell belegt werden, daß z.B. die unsymmetrisch-substituierten Dialkylnitrosamine fast ausschließlich zu Ösophagustumoren führen, Methylnitrosourethan bevorzugt zu Lungenkrebs und der ihm nahe verwandte Methylnitrosoharnstoff zu Tumoren des Nervensystems. Als besonders neurotrop-wirksam erwiesen sich MNH und ÄNH sowie Dimethyl- und Trimethyl-nitrosoharnstoff (DMNH, TMNH). Auch innerhalb der vier zuletztgenannten Verbindungen lassen sich substanzspezifische organotrope Eigenschaften nachweisen: Bei gleichaltrigen Tieren er-

zeugt MNH mehr Tumoren im ZNS, ÄNH mehr im peripheren Nervensystem. TMNH ist ebenfalls v.a. im PNS wirksam, vermutlich auf Grund seiner erhöhten Basizität und Wasserlöslichkeit (S.IVANKOVIC et al., 1965). Bei erwachsenen Ratten übertrifft die kanzerogene Wirksamkeit des MNH diejenige des ÄNH, wohingegen in der Perinatalperiode die Verhältnisse umgekehrt liegen. Letzteres zeigt v.a. die diaplazentare Tumorinduktion, bei welcher ÄNH hochwirksam ist, MNH jedoch nur gering (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.DRUCKREY, 1973; J.M.BRUCHER u.A.E.ERMEL, 1974).

2/ Zeitpunkt der Applikation:

Bei der Verwendung von ÄNH erkennt man eine deutliche Abhängigkeit der neurotrophen Eigenschaften vom Applikationszeitpunkt. So lassen sich mit dieser Substanz in der Perinatalperiode fast ausschließlich neurogene Tumoren in hoher Ausbeute erzielen (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.DRUCKREY et al., 1970 u. 1970a; C.E.SEARLE et al., 1972), während sich mit zunehmendem Alter des Versuchstieres das Organspektrum zugunsten extraneuraler Geschwülste verschiebt: Leukämie, Nephroblastome, Uterus- und Mammakarzinome, Tumoren des Darmtraktes (H.DRUCKREY et al., 1967, 1970 u. 1970a; S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968). Auch im Verlaufe der Fetalperiode scheint die Tumorlokalisation innerhalb des NS zumindest in einem gewissen Maße vom Zeitpunkt der intrauterinen Kanzerogen-Exposition abzuhängen (H.DRUCKREY, 1973). Darauf wird in einem späteren Kapitel noch näher einzugehen sein (s. S.61).

3/ Dosis und Dosisverteilung:

Die Applikation von ÄNH bei adulten Ratten zeigt hinsichtlich der Organotropie mit steigender Dosis eine Verschiebung des Spektrums von extraneuralen zu neurogenen Tumoren (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968).

Auch die Dosisverteilung scheint in gewissem Umfang einen Einfluß auf das Tumorspektrum auszu-

üben, wie besonders am Beispiel des MNH demonstriert werden kann (H.DRUCKREY et al., 1967; W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969; H.M.CRAVIOTO et al, 1974):

- eine hohe intravenöse Einzeldosis bei erwachsenen Tieren erzeugt Tumoren in verschiedenen Organen unter relativ geringer Beteiligung des NS
- die chronische intravenöse Injektion niedriger Einzeldosen über mehrere Monate läßt nahezu selektiv neurogene Geschwülste entstehen.

4/ Rattenstamm:

Von H.M.CRAVIOTO u.Mitarb. (1974) wurde ein Einfluß genetischer Faktoren auf die Tumorverteilung im NS und in außerneuralen Organen beschrieben. Sie untersuchten dabei die diaplazentare Wirksamkeit von MNH bei vier verschiedenen Rattenstämmen.

b) Theoretische Grundlagen der Organotropie, v.a. des Neurotropismus:

Während die o r g a n o t r o p e Wirksamkeit der Resorptivkanzerogene schon seit langem bekannt und im Detail beschrieben ist, steht eine endgültige Erklärung dieses Phänomens bisher noch aus. Es ist zu vermuten, daß für sein Zustandekommen mehrere

substanzspezifische

und
organgebundene

Eigenschaften verantwortlich sind. Im folgenden sollen einige der wichtigsten Erklärungsmöglichkeiten wiedergegeben werden:

aa) Substanzspezifische Eigenschaften:

Von H.DRUCKREY u.Mitarb. (1967) wird darauf hingewiesen, daß für die organotrop-kanzerogene Wirksamkeit der N-Nitrosoverbindungen das M o l e k ü l als G a n z e s verantwortlich sei. So sei z.B. für die Neurotropie gewisser Acyl-Alkyl-nitrosamide (MNH, MNH u.a.) der Harnstoff als " T r ä g e r - m o l e k ü l " wesentlich. Durch geringfügige Veränderungen an der chemischen Konstitution dieses 'Carriers' lassen sich bei gleicher Wirkgruppe erhebliche Unterschiede in der Organotropie erzielen. Dies läßt sich besonders deutlich am Beispiel der beiden nahverwandten Substanzen Methylnitrosoharnstoff und Methylnitrosourethan (MNUT) demonstrieren: MNH zeich-

net sich bekanntlich durch eine hohe Induktionsrate neurogener Geschwülste aus, während MNUT vorwiegend Lungentumoren, nie aber Tumoren des NS erzeugt - und dies, obwohl beide Substanzen als gemeinsame Wirkgruppe das Diazomethan freisetzen (P.N.MAGEE u.R.SCHOENTAL, 1964).

bb) Organgebundene Eigenschaften:

Eine große Bedeutung für die organotropen Eigenschaften der Resorptivkanzerogene scheint weniger den betreffenden Substanzen selbst zuzukommen, als vielmehr dem unterschiedlichen Verhalten der einzelnen Organe bzw. ihrer Zellen in der Auseinandersetzung mit dem kanzerogenen Reiz. Folgende zelluläre Faktoren müssen dabei offenbar besonders berücksichtigt werden:

- spezifische Stoffwechselleistungen zur Aktivierung des Kanzerogens: Für einige der Resorptivkanzerogene (z.B. Nitrosamine, Azo- u. Azoxyalkane) ist eine enzymatische Umwandlung des primär inaktiven Moleküls in das aktive Kanzerogen erforderlich. Ein unterschiedliches Organspektrum könnte dadurch entstehen, daß dieser Umwandlungsprozeß nicht in allen Organen gleichermaßen möglich ist (H.DRUCKREY et al., 1967; R.PREUSSMANN, 1971; E.FARBER, 1973; R.WARZOK et al., 1972; H.DRUCKREY, 1973).
- funktionelle Differenzierungsvorgänge: Von verschiedenen Autoren wird die selektive neurotrophe Wirksamkeit einiger Resorptivkanzerogene während der Perinatalperiode auf die im NS ablaufenden Differenzierungsvorgänge zurückgeführt (H.DRUCKREY et al., 1970a; M.J.RICE, 1969; P.DUSTIN jr., 1972).
- Proliferationsverhalten: Auf die Bedeutung einer hohen Zellteilungsaktivität für die kanzerogene Transformation wurde bereits in einem früheren Kapitel hingewiesen (s.S.12). Da innerhalb der Ontogenese die einzelnen Organe ein zeitlich unterschiedliches Zellteilungsmaximum aufweisen, ändert sich im Laufe der Entwicklung auch ihre blastomogene Empfindlichkeit - und dementsprechend das Organspektrum. Im NS der Ratte fällt die Periode hoher Teilungsaktivität in die Fetal- bzw. frühe Neugeborenenperiode (H.DRUCKREY, 1973; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974a).

- funktionelle Aktivität: Daß auch diesem Faktor ein wesentliches Gewicht zukommt, läßt sich besonders gut an zwei Beispielen verdeutlichen:
 - Bei der diaplazentaren Tumorerzeugung entwickeln die Muttertiere in einem nur unbedeutenden Prozentsatz neurogene Tumoren (im Gegensatz zum Wurf), sie neigen aber zur Geschwulstentstehung in denjenigen Organen, welche während der Trächtigkeit eine erhöhte funktionelle Aktivität aufweisen; also Ovarien, Uterus, Mammæ (V.A.ALEXANDROV, 1969; A.KOESTNER et al., 1971; H.DRUCKREY, 1973a).
 - Tumoren sensorischer Nerven (Olfaktorius, Optikus, Statoakustikus) lassen sich nur in der postnatalen Phase erzeugen. Diese nervalen Strukturen entwickeln ihre funktionelle Aktivität erst nach der Geburt (H.DRUCKREY et al., 1970a). F.F.BECKER (1971) stellt den erhöhten Grad funktioneller Aktivität einer Zelle als die grundsätzliche Bedingung karzinogener Umwandlung heraus: Das Zusammenwirken von a) Zellproliferation (Mitoserate) und b) erhöhter Anforderung an die Zellfunktion spielen eine zentrale Rolle in der Kanzerogenese.
- Repair-Mechanismen: Unter 'Repair' versteht man im Zusammenhang mit der chemischen Kanzerogenese die Fähigkeit einer Zelle, strukturell verändertes Genmaterial zu eliminieren, bevor es zu Störungen in der DNS-gesteuerten Teilungsregulation führt. Die ungenügende Kapazität dieses Repair-Mechanismus in einem bestimmten Organsystem zum Zeitpunkt der Kanzerogen-Exposition muß eine Disposition zur Tumorentstehung in dem betreffenden Organ zur Folge haben. Besonders gut erforscht ist dies am Beispiel alkylierter Purinbasen im NS fetaler und neugeborener Ratten. Gewichtige Gründe sprechen für die Annahme, daß der deutliche Neurotropismus alkylierend-wirksamer Kanzerogene während der Perinatalperiode hauptsächlich mit diesen Zusammenhängen zu erklären ist.

Von verschiedenen Autoren wurde nachgewiesen, daß die Eliminationsrate bestimmter alkylierter Purinbasen im Gehirn fetaler und neugeborener Ratten wesentlich nie-

driger ist als in anderen Organen, wobei offenbar dem am Sauerstoffatom in Position '6' alkylierten Guanin (z.B. O-6-Äthylguanin, O-6-Methylguanin) eine besondere Rolle zukommt (A.LOVELESS, 1969; R.SCHOENTAL, 1969; G.P.MARGISON u.P.KLEIHUES, 1975). Dieser derart veränderte DNS-Baustein neigt in der Replikationsphase (S-Phase) zu anomaler Basenpaarung und führt somit zu einer falschen Basensequenz im komplementären Strang. Ist die betroffene DNS Bestandteil eines das Teilungsverhalten steuernden Regulationssystems (Modell von Jacob u.Monod), so läßt sich hieraus ein Übergang zu ungehemmter, neoplastischer Zellvermehrung verstehen.®)

Der Zusammenhang zwischen Neurotropie und Repairmechanismus im Rattengehirn der Perinatalperiode wird durch folgende Untersuchungsergebnisse noch weiter verdeutlicht:

- /a) Der Grad der initialen Purinbasen-Alkylierung im Anschluß an den Kanzerogen-Puls (MNH, ÄNH) ist in allen Organen nahezu gleich groß - d.h., in Organen mit hohem Tumorrisiko (NS) nicht höher als in solchen mit niedrigem Risiko (z.B. Leber). Er kann also nicht Ursache des unterschiedlichen Organpektrums sein (P.KLEIHUES u.K.PATZSCHKE, 1971; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1972 u.1974).
- /b) im weiteren Verlauf zeigt sich eine verlängerte Persistenz des O-6-Alkylguanins (O-6-AG) im NS, verglichen mit den übrigen Organen. Dies muß auf eine deutlich geringere Elimination (Erkennung u. Exzision der fehlerhaften Base) bezogen werden, die evtl. auf einem noch unreifen Repairmechanismus oder auf einer generellen Unfähigkeit der Hirnzellen zur hinreichenden Durchführung dieses Repairs beruht. Für die letzte Erklärung sprechen diejenigen Befunde, welche auch bei adulten Ratten die gleichen verlängerten Eliminationszeiten für O-6-AG nachweisen konnten (P.KLEIHUES u. G.P.MARGISON, 1974; G.P.MARGISON u.P.KLEIHUES, 1975). Die Halbwertszeit des O-6-AG ist im Gehirn etwa 7-fach höher als in Leber, Verdauungskanal, Niere und Muskulatur, während sich die Halbwertszeiten anderer

alkylierter Purinbasen (N-7-Alkylguanin, N-3-Alkyladenin) in allen genannten Organen einschließlich NS kaum voneinander unterscheiden (R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974a). Möglicherweise beruhen diese differenten Eliminationszeiten darauf, daß lediglich für die Elimination des O-6-AG ein enzymatischer Reparaturprozeß erforderlich ist, während die übrigen alkylierten Basen durch einfache Hydrolyse abgespalten werden (G.P.MARGISON u.P.KLEIHUES, 1975).

Die verlängerte Persistenz des zu anomaler Basenpaarung besonders prädestinierten O-6-AG ("Promutagen") und die gleichzeitig erhöhte DNS-Replikationsrate des perinatalen Rattengehirns sind zwei wesentliche Voraussetzungen, welche die erhöhte Wahrscheinlichkeit einer neoplastischen Transformation im NS bedingen und gleichzeitig eine Deutungsmöglichkeit für die Organspezifität der kanzerogenen Wirkung alkylierender Resorptivkanzerogene bieten (R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974a; G.P.MARGISON u.P.KLEIHUES, 1975; M.F.RAJEWSKY, 1977).

c) Weitere Organotropien:

Bei Verwendung chemischer Resorptivkanzerogene im Rattenversuch lassen sich darüberhinaus auch noch weitere Organotropien erkennen, welche hauptsächlich von der chemischen Struktur des Kanzerogens sowie von der funktionellen Aktivität einzelner Organe (und damit vom Alter der Versuchstiere) bestimmt werden. H.DRUCKREY u.Mitarb. (1967) gelang die selektive Induktion von Tumoren des Ösophagus u. Pharynx, der Leber und des Verdauungskanals, der Lunge, Niere u. Blase sowie der Ethmoturbinalla. Sie brachten dabei 65 verschiedene N-Nitrosoverbindungen zur Anwendung. - Von verschiedenen Autoren wird auch eine gewisse Häufung von Nephroblastomen bei der frühen postnatalen Tumorinduktion beschrieben (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.DRUCKREY et al., 1970a; Y.ISHIDA et al., 1975); ebenso das gehäufte Auftreten von Leukämien (H.DRUCKREY et al., 1967; S.IVANKOVIC u.R.PREUSSMANN, 1970; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972;

J.A.SWENBERG et al., 1972c). - Die Kanzerogen-Exposition während der Trächtigkeit führt beim Muttertier bevorzugt zu Tumoren des Genitaltraktes (V.A.ALEXANDROV, 1969; A.KOESTNER et al., 1971). Hierbei scheint die hohe funktionelle Aktivität dieser Organe von ausschlaggebender Bedeutung zu sein. *)

II N-Nitrosoverbindungen als Resorptivkanzerogene:

1) Historische Entwicklung:

Die ersten Hinweise auf die hohe resorptiv-kanzerogene Potenz der N-Nitrosoverbindungen fanden P.N.MAGEE und J.M.BARNES (1956). Sie erzeugten durch Verfüttern von Dimethylnitrosamin primäre Lebermalignome bei Ratten. - K.M.D.HERROLD (1964) induzierte mit Diäthylnitrosamin Neuroepitheliome der Regio-olfactoria bei Hamstern. - Von der Arbeitsgruppe um H.DRUCKREY ging dann Mitte der 60-er Jahre die systematische Erforschung der kanzerogenen Eigenschaften verschiedener N-Nitrosoverbindungen aus. Sie beschrieben die hohe, oft organspezifische karzinogene Wirksamkeit dieser Substanzen, so z.B. die Erzeugung von Lungenkrebs durch Methylnitrosourethan (H.DRUCKREY et al., 1962a), von Magentumoren durch Methylnitrosoharnstoff (H.DRUCKREY et al., 1964a) und von verschiedensten anderen Geschwülsten einer nahezu den gesamten Organismus erfassenden Provenienz (H.DRUCKREY et al., 1967). Dabei gelang ihnen auch der Nachweis einer selektiv- neurotrophen Kanzerogenität der Nitrosoharnstoff-Derivate MNH (H.DRUCKREY et al., 1964) und ANH. Die zuletzt genannte Substanz erwies sich als besonders wirksam bei transplazentarer Exposition (S.IVANKOVIC et al., 1966).

Inzwischen wurde von einer großen Anzahl an Autoren die hervorragende Eignung der N-Nitrosoverbindungen in der Resorptivkanzerogenese erfolgreich erprobt. Tab. 1 auf S.19 gibt einen Überblick über die seitdem entwickelten Versuchsanordnungen experimenteller Resorptivkanzerogenese im Nervensystem, wobei jedoch nur Versuche mit MNH und ANH berücksichtigt sind. Außerdem sei darauf hingewiesen, daß die angeführten Literaturhinweise lediglich eine begrenzte Auswahl der bisherigen experimentellen Arbeiten wiedergeben.

*) siehe auch S.26

2) Unterschiedliches Verhalten verschiedener neurotroper

Resorptivkanzerogene:

H.DRUCKREY u.Mitarb. (1967) untersuchten 65 verschiedene Dialkylnitrosamine, Acyl-alkyl-nitrosamide und Diazoalkane bezüglich ihrer karzinogenen Eigenschaften. Dabei fanden sie vier Acyl-alkyl-nitrosamide aus der Gruppe der Nitrosoharnstoff-Derivate, welche sich durch einen besonderen Neurotropismus auszeichnen (s.auch S.22). Es handelt sich dabei um die Verbindungen Methyl- u. Äthylnitrosoharnstoff (MNH, ÄNH) sowie Dimethyl- u. Trimethylnitrosoharnstoff (DMNH, TMNH). Die genannten vier Substanzen zeigen gewisse Unterschiede in ihrem Verhalten. Im folgenden soll jede Verbindung kurz bezüglich ihrer neurotroperkanzerogenen Eigenschaften charakterisiert werden:

a) Methylnitrosoharnstoff:

- Er entwickelt seine volle kanzerogene Potenz erst bei der p o s t n a t a l e n Applikation. Dabei zeigt sich folgende Gesetzmäßigkeit: Chronische Verabreichung kleiner Dosen über mehrere Wochen bewirkt eine nahezu selektive Erzeugung neurogener Tumoren (W.JÄNISCH et al., 1967; W.WECHSLER et al., 1969; H.M.CRAVIOTO et al., 1974), eine hohe Einzeldosis führt zu einem Überwiegen der Geschwülste außerhalb des NS (H.M.CRAVIOTO et al., 1974).
- Zur d i a p l a z e n t a r e n Tumorerzeugung ist er im Vergleich zu ÄNH weniger geeignet; bei äquimolarer Dosierung liegt hier die Induktionsrate bei ca. 40 - 50 % und ist damit nur etwa halb so groß wie diejenige, welche mit ÄNH erzielt wird (W.JÄNISCH et al., 1972).
H.DRUCKREY (1973a) vertritt in diesem Zusammenhang die Ansicht, daß die besondere Empfindlichkeit des fetalen Rattengehirns in erster Linie gegenüber den Ä t h y l - Verbindungen bestünde.
- Bei a d u l t e n Ratten liegt die Tumorinduktionsrate deutlich über derjenigen des ÄNH (R.WARZOK et al., 1972).
- Er erzeugt relativ mehr Tumoren im Z N S , Tumoren des PNS treten in ihrer Häufigkeit zurück (H.M.CRAVIOTO et al., 1974).

- Die Tumoren zeichnen sich allgemein durch eine größere **P l e o m o r p h i e** aus (E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970; H.H.SCHMIDET et al., 1971; D.STAVROU, 1971), der Anteil an **S a r k o m e n** ist höher (W.JÄNISCH et al., 1972).
Bei diaplazentarer Erzeugung sind jedoch die isomorphen Tumoren in der Überzahl (Y.ISHIDA et al., 1975).
- MNH übertrifft die übrigen Substanzen bezüglich seiner **T o x i z i t ä t**. Besonders toxisch erweist er sich bei diaplazentarer Exposition (H.DRUCKREY, 1973). Die Blockierung des Zellzyklus (Inhibition der S-Phase) dauert länger an als nach ÄNH (D.A.BOSCH u.E.J.EBELS, 1976).

b) Äthylnitrosoharnstoff:

- Die höchste Tumorrare - bis 100% - läßt sich bei Applikation in der **P e r i n a t a l p e r i o d e** (diaplazentar, neugeborene Ratte) erzielen. Die Substanz wirkt dabei selektiv neurotrop (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; R.WARZOK et al., 1972 u.1977).
- Bei Anwendung an **e r w a c h s e n e n** Ratten ist die kanzerogene Wirksamkeit deutlich reduziert, neurogene Tumoren treten sowohl relativ als auch absolut an Zahl zurück (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; W.JÄNISCH et al., 1972). Unter den außerneuralen Neoplasien sind Leukämien besonders häufig zu finden (W.WECHSLER et al., 1969).
- Tumoren des **P N S** sind gegenüber ZNS-Tumoren leicht in der Mehrzahl (H.M.CRAVIOTO et al., 1974).
- Der feingewebliche Aufbau der **G l i o m e** ist allgemein durch eine größere **I s o m o r p h i e** und höhere Differenzierung gekennzeichnet (J.A.SWENBERG et al., 1972c; R.WARZOK et al., 1972).
Die induzierten **N e u r i n o m e** hingegen neigen in der Regel zu starker **A n a p l a s i e** (J.A.SWENBERG et al., 1972c).

- Allgemein scheinen die Ä t h y l - Verbindungen eine höhere neuroonkogene Wirksamkeit zu entfalten (W.JÄNISCH et al., 1972; H.DRUCKREY, 1973; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974a
- Im Vergleich mit MNH zeichnet sich ÄNH durch eine niedrigere Toxizität, etwa gleichgroße Teratogenität und höhere Kanzerogenität aus (H.DRUCKREY, 1973).

c) Dimethyl-, Trimethylnitrosoharnstoff:

Über diese beiden Substanzen lassen sich nur wenige Angaben in der Literatur finden. H.DRUCKREY u.Mitarb. (1967) berichten über eine ausgeprägte neurotrope Kanzerogenität. S.IVANKOVIC u.Mitarb. (1965) weisen darauf hin, daß die infolge der zusätzlichen Methylierung am 2.Stickstoffatom erhöhte Basizität des TMNH eine deutliche Verschiebung der kanzerogenen Wirksamkeit zum P N S hin bewirkt.

3) Unterschiedliche Ergebnisse durch Variation der Methode:

Die Anwendung von N-Nitrosoverbindungen im Tierexperiment zur Erzeugung neurogener Tumoren bietet auf Grund der unkomplizierten Methodik sowie der vielseitigen Verwendbarkeit der relativ stabilen und leicht synthetisierbaren Substanzen die Möglichkeit, durch Variation der Versuchsanordnung einen Einfluß auf den Ablauf der Tumorentstehung auszuüben. Dabei läßt sich feststellen, daß durch

V a r i a t i o n m e t h o d i s c h e r P a r a m e t e r wie

Wahl der Substanz,

Dosis und Dosisverteilung,
Applikationszeitpunkt,
Applikationsform,
Rattenstamm und
Geschlecht des Versuchstieres

in einem gewissen Maße eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse möglich ist bezüglich:

Tumor-Inzidenz,
Entwicklungslatenz,
Tumorlokalisation u. -spektrum,
Histologie.

- Der Zusammenhang zwischen kanzerogener S u b s t a n z und Tumorspektrum bzw. -morphologie wurde bereits in früheren Kapiteln erläutert (siehe S.22 u. S.30 ff.).
- Auf die Bedeutung von D o s i s und D o s i s v e r t e i l u n g für das organotrope Verhalten der N-Nitrosoverbindungen wurde ebenfalls bereits näher eingegangen (siehe S.23). Es bleibt zu beachten, daß durch die Toxizität der Nitrosamide der Höhe von Einzel- und Gesamtdosis sowie der Anzahl und dem Zeitintervall wiederholter Applikationen Grenzen gesetzt sind, welche den Variationsspielraum einengen (W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969).

Folgende Dosis/Wirkungs-Relationen werden genannt:

Je höher die Gesamtdosis,	umso größer die absolute Tumorzin- zidenz, die Rate an neurogenen Tumoren und der Anteil multipler Geschwülste -
	umso kürzer die Entwicklungs- latenz der Tumoren und damit die Überlebensdauer der Tiere.
	(S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.H.SCHMIDKE et al., 1971; J.A.SWENBERG et al., 1972a)

Ein Zusammenhang zwischen Dosis und Tumorphysiologie bzw. Tumorart läßt sich nicht eindeutig erkennen (J.A.SWENBERG et al., 1972a). Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß bei hoher Dosierung infolge des rascheren Geschwulstwachstums (kürzere Entwicklungs-
latenz, s.o.) zu einem früheren Zeitpunkt bereits stärker entdiffe-
renzierte, pleomorphe Tumoren gefunden werden.

- Bezüglich des A p p l i k a t i o n s z e i t p u n k t e s läßt sich grundsätzlich feststellen, daß die höchste Inzidenz neurogener Tumoren bei perinataler Exposition (diaplazentar, neugeborene Tiere bis ca. 10 Tage p.p.) erzielt wird. In diesem Zeitraum ist die Empfindlichkeit des Ratten-Nervensystems gegenüber kanzerogenen Reizen etwa um den Faktor 50 höher als beim adulten Tier (S. IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968). Auch innerhalb der Fetalperiode läßt sich ein Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Applikation und der Tumorzin-
zidenz sowie dem neurogenen Geschwulstspektrum er-
kennen. H.DRUCKREY (1973) beschreibt bei zunehmender Trächtigkeits-
dauer eine Verschiebung des Tumorspektrums vom ZNS über das PNS zu
den Hirnnerven (v.a.N.trig.). A.KOESTNER u.Mitarb.(1971) bestätigen diese Beobachtung und bezeichnen die letzten intrauterinen Tage

(etwa ab 20.Tag p.c.) als die empfindlichste Phase, gemessen an der Tumorzinzidenz.

Weitere Besonderheiten bei diaplazentarer Exposition:

Man findet deutlich mehr multiple Tumoren (C.THOMAS u.G. KERSTING, 1968), häufig handelt es sich um Mischtumoren - z.B. Oligodendrogliom/Astrozytom (G.KERSTING, 1971) -, die Neurinome neigen zu größerer Anaplasie mit spindellig-sarkomatösem Aufbau (C.THOMAS u.G.KERSTING, 1968; A.KOESTNER et al., 1972).

- Die Applikationsform (i.v., i.p., s.c., p.o.) der resorptiv-wirksamen N-Nitrosoverbindungen scheint insgesamt keinen wesentlichen Einfluß auf die Tumorentwicklung auszuüben (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968). Diese Aussage ist allerdings insofern einzuschränken, als die rasch in ihre Wirkform zerfallenden Verbindungen wie z.B. MNH auch am Applikationsort (Magen bei p.o.-Appl., Haut bei s.c.-Inj.) lokal karzinogen wirksam sein können und damit einen Zusammenhang zwischen Applikationsform und Tumorerzeugung herstellen (H.DRUCKREY et al., 1967). In diesem Kontext ist auch erwähnenswert, daß bei peroraler Gabe von Karzinogen - V o r s t u f e n , also z.B. Äthylharnstoff und Nitrit, eine annähernd gleiche Tumorzinzidenz mit demselben neurotropen Spektrum zu erzielen ist (S.IVANKOVIC u.R.PREUSSMANN, 1970; G.OSSKE et al., 1972; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975).
- Von mehreren Autoren wird auch eine deutliche Abhängigkeit der Geschwulstentwicklung vom R a t t e n s t a m m und damit von g e n e t i s c h e n Faktoren angegeben. A.KOESTNER u.Mitarb. (1971) und J.A.SWENBERG u.Mitarb. (1972a) finden beim Vergleich zweier Rattenstämme signifikante Unterschiede sowohl hinsichtlich des neurogenen Tumorspektrums als auch im Blick auf die Überlebensdauer. - H.DRUCKREY u.Mitarb. (1970a) beobachten nach transplazentarer Induktion neurogener Malignome bei 10 genetisch-differenten Rattenstämmen ebenfalls deutlich unterscheidbare Vorzugslokalisationen. - Signifikant unterschiedliche Inzidenzraten von Tumoren des ZNS bei zwei Rattenstämmen - nämlich 72 % (Haubenratten) gegenüber 33 % (Wistar-Ratten) - werden nach chronisch-intravenöser MNH-Injektion auch von W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER (1969) beobachtet.

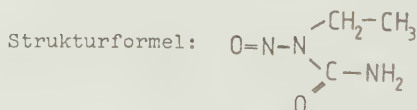
Andere Autoren hingegen können keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen genetischen Bedingungen und Tumorzinzidenz finden (H.H. SCHMIDKE et al., 1971; E.L.JONES et al., 1973).

- Schließlich wird auch noch vereinzelt über eine gewisse Geschlechts-Abhängigkeit der neurogenen Geschwulstentwicklung berichtet; ein Phänomen, welches ja bekanntlich in der menschlichen Neuropathologie eindeutig nachzuweisen ist. So konnten H.M.CRAVIOTO u.Mitarb. (1974) bei männlichen Ratten mehr Neurinome erzeugen als bei weiblichen Tieren des gleichen Stammes. - J.A.SWENBERG u.Mitarb. (1972a) fanden eine signifikant niedrigere Überlebensdauer bei männlichen Tieren (diese Beobachtung konnte auch in der vorliegenden Arbeit gemacht werden, worauf später noch einzugehen sein wird). - Verschiedene andere Autoren können die genannten Zusammenhänge jedoch nicht bestätigen (A. KOESTNER et al., 1971; E.L.JONES et al., 1973).

4) ÄNH als Resorptivkanzerogen:

- a) Chemische Eigenschaften: (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; IARC-MONOGRAPHS, 1971)
- N-Aethyl-N-nitrosoharnstoff oder 1-Aethyl-1-nitrosoharnstoff, chemische Kurzbezeichnung: ÄNH (auch ENH), im englischen Sprachgebrauch: N-Ethyl-N-nitrosourea (ENU), ist ein Acyl-alkyl-nitrosamid aus der Reihe der N-Nitrosoverbindungen.

Summenformel: $C_3H_7N_3O_2$



Molekulargewicht: 117,1

Nach Reinigung durch Umkristallisieren liegt die Substanz in Form gelblicher Kristalle vor, mit einem Schmelzpunkt von 104°C .

Die Wasserlöslichkeit beträgt bei 20°C : 1,3%.

In wässriger Lösung tritt eine heterolytische Spaltung ein, dabei wird seine Wirkform Diazoethan freigesetzt. Die Halbwertszeit ist pH-abhängig und nimmt mit zunehmender Basizität des Milieus ab: pH 6 = 31 Std.; pH 7 = 1,5 Std.; pH 8 = 0,1 Std. Zur Stabilisierung (bei pH 4,5) eignen sich Citrat- und Phosphatpuffer sowie Ascorbinsäure.

b) ÄNH als neurotropes Resorptivkanzerogen:

ÄNH war von Anfang an die S t a n d a r d - Substanz für die d i a p l a z e n t a r e Erzeugung neurogener Tumoren bei der Ratte (H.DRUCKREY et al., 1966; S.IVANKOVIC et al., 1966; W.WECHSLER et al., 1969; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970; J.A.SWENBERG et al., 1972a).

Die chronische intravenöse Applikation brachte keine befriedigenden Ergebnisse bezüglich ihrer neuroonkogenen Wirksamkeit (H.DRUCKREY et al., 1967).

Eine große, selektiv-neurogene Tumorzinzidenz wurde jedoch bei einmaliger subkutaner Injektion an neugeborenen Ratten erzielt (H.DRUCKREY et al., 1970; C.E.SEARLE et al., 1972; U.ENGELMANN et al., 1976).

Als Modifikation sei schließlich noch die perorale Verabreichung von ÄNH-Vorstufen bei trächtigen Ratten genannt, welche ebenfalls eine hohe Tumorzinzidenz ergibt (S.IVANKOVIC u.R.PREUSSMANN, 1970; G.OSSKE et al., 1972; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975).

Seine r e s o r p t i v - kanzerogene Wirksamkeit behält ÄNH auch nach lokaler i n t r a z e r e b r a l e r Applikation bei. E.GROSSI-PAOLETTI u.Mitarb.(1972) sowie H.M.CRAVIOTO u. Mitarb.(1974) injizierten eine wässrige Lösung von ÄNH direkt in die Hirnsubstanz neugeborener Ratten. Es entwickelten sich Tumoren des ZNS und PNS mit einer Inzidenzrate von 84 % bzw. 91 %. In keinem Fall kam es dabei zu neoplastischem Wachstum direkt am Injektionsort.

Die besonders bei t r a n s p l a z e n t a r e r Applikation ausgeprägte neurotrop-onkogene Wirksamkeit des ÄNH beruht im wesentlichen auf zwei Eigenschaften:

Zum einen zeichnen sich die Ä t h y l - Verbindungen allgemein durch eine erhöhte neuroonkogene Potenz aus (W.JÄNISCH et al., 1972; H.DRUCKREY, 1973; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974a). Zum anderen ist seine akut - t o x i s c h e Wirkung deutlich niedriger als z.B. diejenige des MNH. Ein Vergleich der LD₅₀ (Dosis, welche in 50 % zum Absterben der Versuchstiere führt) beider Substanzen kann dies zeigen:

ausgedrückt in mg/kg Körpergewicht beträgt sie für

	ÄNH	MNH
bei adulten Ratten:	250	110
bei fetalen Ratten:	80	5 (H.DRUCKREY, 1973).

Dies bedeutet, daß erst bei relativ hohen Dosen toxische Wirkungen (z.B. intrauterines Absterben der Feten, Laktationshemmung beim Muttertier) auftreten. Mit der damit zur Verfügung stehenden Dosierungsbreite erreicht man Inzidenzraten neurogener Tumoren bis zu 100 %, wobei auch außerordentlich häufig multiple Neoplasmen zu finden sind (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.DRUCKREY et al., 1970a; A.KOESTNER et al., 1971 u. 1972; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975; R.WARZOK et al., 1977).

Die m i t t l e r e w i r k s a m e D o s i s bei diaplazentarer Applikation, i.e. diejenige Substanzkonzentration, mit welcher noch bei 50 % der intrauterin exponierten Ratten neurogene Geschwülste erzeugt werden können, wird von S.IVANKOVIC u. H.DRUCKREY (1968) mit 3,2 mg/kg KG angegeben. Dies sind weniger als 5 % der LD₅₀ (s.o.).

Auf einige weitere Unterscheidungsmerkmale zwischen ÄNH und den übrigen neurotrophen N-Nitrosoverbindungen, als da v.a. sind Spektrum und morphologisches Verhalten der induzierten Tumoren, wurde bereits in vorausgehenden Kapiteln hingewiesen (s.S.22 u.S.30 ff.).

c) Wirkungsmechanismus des ÄNH:

Äthylnitrosoharnstoff zählt zu den a l k y l i e r e n d wirkenden Kanzerogenen. Die bei der ÄNH-induzierten kanzerogenen Transformation auf zellulärer Ebene stattfindenden chemischen Abläufe sind weitgehend aufgeklärt. Das ÄNH-Molekül (I) selbst stellt dabei nicht die wirksame Form dar, sondern erst das durch heterolytischen Zerfall entstehende D i a z o ä t h a n (II), genauer: Äthyl-diazo-hydroxid. Dieses stark reaktionsfähige Agens spaltet seinerseits in einem entscheidenden letzten Schritt das Ä t h y l - R a d i - k a l (III) als endgültige Wirkform ab (s. Abb.1).

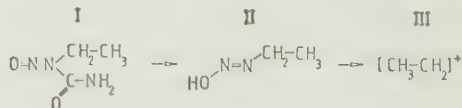
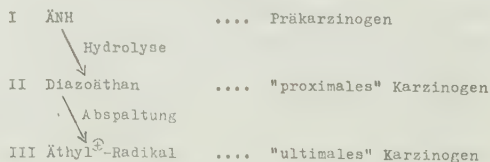


Abb.1: Schematische Darstellung:
der Übergang von ÄNH in seine aktive Form
erfolgt in einzelnen Stufen(I-III)



(R.PREUSSMANN, 1971; H.DRUCKREY, 1973; R.GOTH u.
M.F.RAJEWSKY, 1974a)

Das Äthyl-Radikal besitzt auf Grund seiner elektrophilen Eigenschaften eine besondere Affinität zu verschiedenen Zellkern-Strukturen, wobei für den kanzerogenen Umwandlungsprozeß eine Alkylierung von Nukleinsäuren die entscheidende Rolle spielen dürfte (H.DRUCKREY, 1973a). Auf die Bedeutung der dabei entstehenden Alkyl-Guanine, deren unterschiedliche Eliminationsrate durch Repair-Prozesse und die durch falsche Basenpaarung möglichen Auswirkungen auf die Zellteilungs-Regulation wurde bereits in den Abschnitten über die Krebstheorien (A/III 3) S.9 ff.) und über die theoretischen Grundlagen der Organotropie (C/I 2) b) S. 26) näher eingegangen.

Da die Halbwertszeit des ÄNH in vivo sehr niedrig ist - sie beträgt unter physiologischen Bedingungen zwischen 8 min. (R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1972) und etwa einer halben Stunde (J.M.RICE, 1973) - , laufen die genannten Mechanismen nur in der unmittelbar an die Applikation anschließenden Initialphase ab. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von 'Pulse Carcinogenesis' (P.N.MAGEE u.R.SCHOENTAL, 1964; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1974). Diese kurze Verweildauer des aktiven Kanzerogens im Organismus ist ein weiterer Faktor der besonderen Eignung von ÄNH für die diaplazentare Tumorinduktion, denn man kann sicher sein, daß die Exposition der Jungtiere wirklich intrauterin stattfindet und nicht erst postnatal, z.B. über die Muttermilch (N.P.NAPALKOV u.V.A.ALEXANDROV, 1968).

Für die akut-toxischen Effekte werden Alkylierungsreaktionen an der t-RNS und verschiedenen zytoplasmatischen Proteinen verantwortlich gemacht (P.N.MAGEE u.R.SCHOENTAL, 1964; P.KLEIHUES, 1969a; R.GOTH u.M.F.RAJEWSKY, 1972), sowie eine Desintegration der Polysomen, Ort der zellulären Proteinsynthese (P.N.MAGEE, 1969).

III Die experimentell erzeugten Tumoren:

1) Biologisches Verhalten:

- a) Lokalisations-Spektrum, Morphologie und Klassifikation,
verschiedene Stadien der Tumorentwicklung:

Lokalisations-Spektrum:

Die mit Resorptivkanzerogenen bei der Ratte erzeugten neurogenen Tumoren verteilen sich mit unterschiedlicher Häufigkeit auf die einzelnen Abschnitte des Nervensystems. K.J.ZÜLCH u. H.D.MENNEL (1971a) finden bei 1 7 3 1 experimentell induzierten Tumoren des Ratten-NS folgende prozentuale Verteilung:

Z N S :	Großhirn	39 %	
	Hirnstamm	<u>3,2 %</u>	
		42,2 %	
	Rückenmark	13,2 %	
			<u>insgesamt: 55,4 %</u>
P N S :	Hirnnerven:	N.trigeminus	13,2 %
		andere HN	<u>1,6 %</u>
			14,8 %
	Spinalnerven		20,4 %
	(hauptsächlich Nervenwurzeln u. Plexus; einschl.Cauda equina)		
			<u>insgesamt: 35,2 %</u>

S e l t e n e L o k a l i s a t i o n e n :

Meningen	1,8 %
Bulbus olfactorius	2,8 %
Hypophyse	2,7 %
andere Lokalisationen	<u>2,1 %</u>
	9,4 %

Wie schon in früheren Kapiteln näher ausgeführt, ist jedoch das lokalisatorische Spektrum der experimentellen neurogenen Geschwülste von verschiedenen methodischen Parametern abhängig (s.S. 30 ff. u.S. 32 ff.). So werden insbesondere über die prozentuale Verteilung der Tumoren auf das ZNS und das

PNS von den einzelnen Autoren erheblich differierende Angaben gemacht. Offensichtlich spielt hierbei die Wahl der Methode (z.B. diaplazentare oder postnatale Applikation, Dosis und Dosisverteilung, Verwendung unterschiedlicher Kanzerogene) ebenso eine Rolle wie der Einsatz genetisch-differenter Rattenstämme. Eine umfassende Übersicht hierzu findet sich bei D.A.BOSCH, 1973; Tafel A).

Auffallend selten wird eine experimentelle Erzeugung von Tumoren des K l e i n h i r n s beschrieben - sieht man ab von einer lokalen Pellet-Implantation (H.M.ZIMMERMAN u.H.ARNOLD, 1941; H.M.ZIMMERMAN, 1967) und der offenbar wesentlich höheren Inzidenz bei M ä u s e n (W.WECHSLER et al., 1974; C.E.SEARLE u.E.L.JONES, 1976). W.WECHSLER u.Mitarb. (1969) fanden unter 1021 neurogenen Tumoren im Rattenexperiment nur 23 Kleinhirngeschwülste (2,25%), V.A.ALEXANDROV (1976) induzierte bei 55 Ratten insgesamt 3 Tumoren des Kleinhirns. E.L.JONES u.Mitarb. (1973) beobachteten unter 71 neurogenen Tumoren 4 im Kleinhirn lokalisierte Neoplasien (5,6%). Diese zuletzt genannt hohen Prozentzahlen stellen jedoch im Vergleich zu den Befunden der meisten anderen Autoren eine ausgesprochene Rarität dar.

Morphologie, Klassifikation:

Für eine Einteilung der Geschwülste hinsichtlich ihrer morphologischen Eigenschaften hat sich die von B a i l e y u. Cushing entwickelte und von Z ü l c h fortgeführte Klassifikation menschlicher Tumoren bewährt (K.J.ZÜLCH u.H.MENNEL, 1971a), hierbei werden folgende Tumorformen unterschieden (D.STAVROU, 1971):

1. a) i s o m o r p h e Tumoren: gleichmäßiger Aufbau, einheitliches Gewebsbild, wenig Mitosen ($\hat{=}$ Grad I, II)
- b) p l e o m o r p h e Tumoren: verschieden große und unregelmäßig geformte Zellen, Kernatypien, unregelmäßiges Gewebsbild durch regressive Veränderungen und Stromaproliferation, hohe Mitoserate mit zahlreichen atypischen Mitosen ($\hat{=}$ Grad III, IV)

2. heteromorphe Tumoren (Misch-Tumoren): Aufbau des gesamten Tumors aus mehreren Zellarten (z.B. Oligodendro-/Astrozyten). Diese Gruppe kann in sich ebenfalls wieder unterteilt werden in eine isomorphe bzw. pleomorphe Form. Es gilt noch zu beachten, daß nicht alle aus mehreren Zellarten aufgebaute Tumoren der Gruppe der Mischtumoren zugeordnet werden. Immer dann, wenn 1 Zellart deutlich stärker vertreten ist, richtet sich die Bezeichnung nach der überwiegen- den Komponente.

Die histologischen Merkmale der experimentellen Tumoren zeigen zwar prinzipiell eine große Übereinstimmung mit den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Geschwülsten, von allen Autoren wird aber regelmäßig die höhere Malignität und ein größerer Anteil an sarkomatösen Gewebsbildern hervorgehoben. Dies kann mit der starken Wirkung des kanzerogenen Reizes unter experimentellen Bedingungen erklärt werden (K.J.ZÜLCH u.H.D.MENNEL, 1971a). - D.STAVROU (1971) findet jedoch in einer vergleichenden histomorphologischen und histochemischen Untersuchung spontaner und experimentell induzierter Tumoren des Ratten-NS keine grundsätzlichen Unterschiede, so daß die höhere Malignitätsstufe auch als allgemeines Merkmal der neurogenen Geschwülste bei dieser Spezies betrachtet werden könnte.

In Tab. 2 sind die häufigsten Tumortypen dargestellt. Die Aufzählung folgt dabei den Ergebnissen, die von K.J.ZÜLCH u.H.D.MENNEL (1971a) bei der histologischen Beurteilung von 1731 experimentell erzeugten Tumoren gewonnen wurden.

Zusätzlich werden von verschiedenen anderen Autoren einige seltenere Geschwulsttypen beschrieben:

Gliependymom	3,1% (J.A.SWENBERG et al., 1972a)
bzw.	3,9% (A.KOESTNER et al., 1971)
Medulloblastom	1,6% (E.L.JONES et al., 1973)
Gliosarkom	0,3% (J.A.SWENBERG et al., 1972a)

Weitere seltene Tumorarten sind Neuroblastome (J.M. BRUCHER u.A.E.ERMEL, 1974), Ependymoblastome (H.DRUCKREY et al., 1965) und Gangliozytome (G. STROOBANDT u.J.M.BRUCHER, 1968).

Tab.2: Klassifikation und prozentuale Verteilung
der häufigsten experimentellen Tumortypen
(nach K.J.ZÜLCH,H.D.MENNEL;1971a)

Oligodendrogliome		8,4%
isomorph	8,3%	
pleomorph	0,1%	
Astrozytome		5,2%
isomorph	5,0%	
pleomorph	0,2%	
Mischgliome		21,4%
isomorph	17,5%	
pleomorph		
(Glioblastom-ähnlich)	3,9%	
Ependymome		13,1%
isomorph	11,8%	
pleomorph	1,3%	
Maligne Neurinome		42,0%
Meningealtumoren		1,2%
Ästhesioneuroepitheliome/ Medulloepitheliome		1,3%
Hypophysenadenome		2,9%
Unklassifizierte u. andere		4,5%
		100.0%

Wie schon im Zusammenhang mit dem lokalisatorischen Spektrum erwähnt, muß auch hier berücksichtigt werden, daß die Versuchsbedingungen eine modifizierende Wirkung auf die prozentuale Verteilung der verschiedenen Tumortypen ausüben. So finden sich in der Literatur besonders unterschiedliche Angaben zur relativen Häufigkeit der Oligodendrogliome, Mischgliome und Ependymome (E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970; D.STAVROU, 1971; J.A. SWENBERG et al., 1972a; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975). Dies kann zum einen auf Variationen im methodischen Vorgehen, zum anderen auch auf unterschiedlichen Kriterien in der histologischen Beurteilung beruhen.

Schließlich seien noch zwei Hauptgruppen experimenteller neurogener Tumoren besonders erwähnt:

1. Neurinome: Diese Gruppe stellt in vielen Versuchsreihen das Hauptkontingent dar (W.WECHSLER et al., 1969; K.J.ZÜLCH u. H.D.MENNEL, 1971a; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972; D.SCHIFFER, 1973). Besonders häufig betroffen sind der N. t r i g e m i n u s

sowie die spinalen Nervenwurzeln und Plexus. Histologisch handelt es sich in der Regel um maligne, anaplastische Tumoren mit regressiven Veränderungen. Es besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit den "malignen Neurinomen" der menschlichen Neuropathologie (H.D.MENNEL u.K.J.ZÜLCH, 1971).

2. Rückenmarkstumoren: Bei den intramedullären Geschwülsten herrschen Ependymome, isomorphe und pleomorphe Gliome sowie Mischgliome vor. Ihr histologisches Verhalten unterscheidet sich nicht von dem der cerebralen Tumoren (P.KLEIHUES et al., 1968; H.D.MENNEL et al., 1971a; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972).

Davon zu trennen sind Neurinome der Nervenwurzeln, welche das RM sekundär in den neoplastischen Prozeß einbeziehen können.

Verschiedene Stadien der Tumorentwicklung:

Die tierexperimentelle Erforschung pathogenetischer und histomorphologischer Grundlagen des Tumorstwachstums gibt uns die Möglichkeit, durch Töten der Tiere in unterschiedlichem zeitlichen Intervall nach Kanzerogen-Exposition eine sequentielle Geschwulstentwicklung sichtbar zu machen. Die experimentelle Neuroonkologie hat aus dieser Tatsache wichtige Erkenntnisse für das Verständnis neurogener Tumorentwicklung gewonnen.

Auf zwei Phänomene soll in diesem Zusammenhang besonders eingegangen werden:

1. Die Unterteilung gliogener Tumoren in
frühe neoplastische Proliferation,
Mikrotumor und
Makrotumor.
 2. Die verschiedenen histologischen Stadien
gliogener Tumoren im zeitlichen Verlauf.
- ad 1.: Von den meisten Autoren werden neben makroskopisch sichtbaren Tumoren auch frühe Stadien neoplastischen Wachstums beschrieben, welche erst mit Hilfe mikroskopischer Untersuchungsmethoden zur Darstellung kommen (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; W.WECHSLER et al., 1969; W.JÄNISCH et al., 1970; D.STAVROU, 1970; A.KOESTNER et al., 1971; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972; P.L.LANTOS, 1972; D.SCHREIBER et al., 1977).

Die erste und kleinste Stufe tumorösen Wachstums stellen die sog. "frühen neoplastischen Proliferationen" dar. Hierbei handelt es sich um fokale Zellproliferationen an den Prädispositionsstellen für neurogenes Geschwulstwachstum (A.KOESTNER et al., 1971). In der Regel bestehen sie aus isomorphen Gliomzellen (v.a. Oligodendrogliome, seltener Astrocytome), Mitosen sind selten (W.JÄNISCH et al., 1970).

Die nächst größere Stufe sind die "Mikrotumoren". Sie besitzen bereits typische Geschwulstmerkmale wie Zellreichtum, invasives Wachstum und eine erhöhte Mitoserate (J.A.SWENBERG et al., 1972c); von den "Makrotumoren" unterscheiden sie sich lediglich durch ihre geringere Ausdehnung.

J.A.SWENBERG u.Mitarb.(1972c) sowie M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER (1975) geben folgende Größeneinteilung dieser drei Entwicklungsstufen an:

frühe neoplastische Proliferation	bis 1 mm Durchmesser		
Mikrotumor	 bis 4 mm	"	"
Makrotumor	 ab 4 mm	"	"

- ad 2.: Die histologische Beurteilung dieser verschiedenen Tumorstadien läßt ebenfalls eine sequentielle Entwicklung erkennen. Diese verläuft in der Regel von einem isomorphen Zellbild bei den Frühstadien (frühe neoplastische Proliferation, Mikrotumor) zu einer immer deutlicheren Pleomorphie bei den Makrotumoren. Die anfangs beschriebene Einteilung in iso-, hetero- und pleomorphe Tumorformen scheint also eine zeitabhängige Eigenschaft ein- u. derselben Geschwulstart zu charakterisieren (C.THOMAS u. G.KERSTING, 1964). Die neoplastische Transformation wird primär in den Oligodendrozyten sichtbar. Diese Gliazellart besitzt offenbar zusammen mit den Zellen der Subependym-schicht eine besondere Empfindlichkeit gegenüber kanzerogenen Reizen, während die Astrozyten eher auf die akut-toxische Wirkung des Kanzerogens ansprechen, weniger auf dessen blastomogene Eigenschaften (W.JÄNISCH et al., 1970; P.L.LANTOS, 1971). Erst mit zunehmendem Größenwachstum kommt es durch Hinzutreten astrozytärer und weniger differenzierter Gliazellen, teilweise auch mesenchymaler Bestandteile, zu dem Bild des heteromorphen (Misch-) Tumors.

Der p l e o m o r p h e Tumoraufbau ist später Folge einer erhöhten Teilungsaktivität mit Unterschieden in Größe und Form der Zellen sowie der Kernstruktur, einer Zunahme des Tumorstromas mit Gefäß- u. Faserreichtum und schließlich auch Ergebnis regressiver Veränderungen mit Gewebstekrosen in den zentralen Tumorteilen. Dieses zuletzt genannte pleomorphe Stadium wird von manchen Autoren mit dem G l i o b l a s t o m a m u l t i - f o r m e der menschlichen Neuropathologie verglichen (G.KERSTING, 1965; C.THOMAS u.G.KERSTING, 1968; H.H.SCHMIDEK et al., 1971). Von D.SCHIFFER u.Mitarb.(1971) wird als allgemeiner Grundsatz formuliert:

Die experimentellen Gliome entwickeln sich aus Mikrotumoren heraus. Polymorphe Gliome entstehen aus isomorphen, Mischgliome stellen evtl. ein Zwischenstadium dar.

Allerdings finden sich in der Literatur auch immer wieder Ausnahmen von diesem regelhaften Ablauf, z.B. primär pleomorphe Frühstadien (P.L.LANTOS, 1972) oder große isomorphe Tumoren; auch gibt es isomorphe Frühstadien reiner Astrocytome (M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975) oder Ependymome (M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975; D.SCHREIBER et al., 1977).

b) Bevorzugte Lokalisation der experimentell erzeugten Tumoren:

Das für die menschlichen Hirntumoren charakteristische Phänomen bestimmter V o r z u g s l o k a l i s a t i o n e n findet sich auch bei den experimentell erzeugten neurogenen Geschwülsten der Ratte, wenngleich in weniger ausgeprägtem Maße (K.J.ZÜLCH, 1969).

K.J.ZÜLCH u.H.D.MENNEL (1971a) beschreiben folgende bevorzugte Tumorlokalisationen, wobei sie auf die Bedeutung des Lokalisationsverhaltens von F r ü h s t a d i e n hinweisen, da hier der Ausgangsort noch am besten zu bestimmen sei:

1. Hirn: periventrikulär (v.a. Vorderhornbereich)
 intraventrikulär
 Hippocampus-Region
 Corpus callosum
2. PNS: N. trigeminus
 Plexus lumbosacralis u. brachialis
3. RM: nahe dem Zentralkanal
 Gegend des Septum dorsale

Bei 207 durch diaplazentare Applikation erzeugten Hirntumoren fanden S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY (1968) folgende Lokalisationen: siehe Abb.2. Ganz im Vordergrund steht dabei die Temporalhorn-Region im Bereich des H i p p o c a m p u s , in der sich zwei Drittel der Tumoren entwickelten.

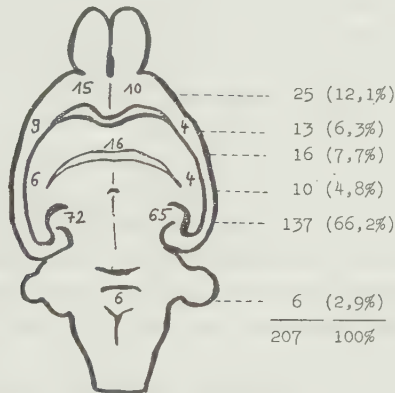


Abb.2: Lokalisation von 207 experimentell erzeugten Hirntumoren.
(nach S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY;1968)

Aus den Untersuchungsergebnissen vieler Autoren läßt sich erkennen, daß die beiden Hauptquellen gliomatösen Wachstums im Gehirn durch

1. die primitiven Zellen der subependymären Zone
2. die Oligodendrozyten des Marklagers (und des Cortex)

repräsentiert werden (P.L.LANTOS, 1972).

Bedeutung der subependymären Zone für die Entstehung gliogener Hirntumoren:

Die der Ependymschicht der Seitenventrikel benachbart liegende subependymäre Zone des Rattengehirns stellt eine zell- und mitosenreiche Matrixplatte für die Neubildung von Glia- und Nervenzellen dar, deren größte Aktivität in der fetalen und frühen postnatalen Periode liegt (J.ALTMAN,1966a), welche aber auch noch bei jungen und adulten Tieren eine gewisse proliferative Funktion erkennen läßt (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1965; P.D.LEWIS, 1968).

Seit den Anfängen experimenteller Neuroonkogenese wurde immer wieder auf die Bedeutung dieser Zellschicht als Prädilektionssort bei der Entwicklung neurogener Tumoren

hingewiesen. Besonders eindrucksvoll konnte dies belegt werden, nachdem sich durch die Einführung der Resorptivkanzerogene hohe Tumor-Inzidenzraten erzielen ließen (S.IVANKOVIC u.D.DRUCKREY, 1968; P.KLEIHUES et al, 1968; W.WECHSLER et al., 1969; A.KOESTNER et al., 1971; P.L.LANTOS, 1972). Aber nicht nur bei resorptiv-induzierten Tumoren, sondern auch bei der lokalen Implantation von Kohlenwasserstoff-Pellets (J.W.HOPEWELL u.E.A.WRIGHT, 1969) und bei virusinduzierten Hirntumoren (N.A.VICK et al., 1971) scheint der subependymären Zellschicht eine besondere Rolle als Ursprungs-ort neoplastischen Wachstums zuzukommen.

J.ALTMAN u.G.D.DAS (1965) beschrieben im Wandbereich der Seitenventrikel, v.a. an den lateralen Abschnitten der Vorderhörner, einen Pool undifferenzierter Zellen, der bei neugeborenen Ratten seine höchste Teilungsaktivität aufweist. Von dieser Matrixschicht aus erstreckt sich ein Band abwandernder Zellen zwischen dem Corpus callosum und den Basalganglien in Richtung auf den Cortex *) (J.ALTMAN, 1966a).

Daß die Neubildung von Gliazellen und Neuronen aus den primitiven Zellen der subependymalen Zone nicht nur bei neugeborenen Ratten, sondern auch noch bei jungen und erwachsenen Tieren stattfindet, konnte von verschiedenen Autoren nachgewiesen werden (J.ALTMAN, 1963 u. 1966a; J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1966; P.D.LEWIS, 1968).

J.SMART (1961) beschreibt die Bedeutung dieses Zell-Pools für die postnatale Glia- und Neuronogenese der Mäuse.

Nicht nur bei Nagetieren, sondern auch bei höheren Säugern und dem Menschen findet sich diese ventrikelnähe Zellschicht, welche während des gesamten Lebens eine persistierende Mitoseaktivität erkennen läßt (K.FISCHER, 1967; P.D.LEWIS, 1968a; P.D.LEWIS u.MABEL LAI, 1974).

Die eingangs erwähnte periventrikuläre Vorzugslokalisation experimentell erzeugter Hirntumoren läßt sich nun aus der erhöhten Teilungsaktivität der subependymären Zone verstehen. W.OEHLERT (1973) und viele andere mit den Grundlagen der Geschwulstentstehung befaßte Autoren weisen immer wieder darauf hin, daß die kanzerogene Transformation eine Teilungsfähigkeit der Zelle unbedingt voraussetze und daß die Wahrscheinlichkeit der neoplastischen Umwandlung einer Zelle umso größer zu veranschlagen sei, je höher ihr Proliferationsverhalten ist (s.auch S.12).

*) s.Abb.43

Wie P.L.LANTOS (1977) zeigen konnte, gelingt ein Nachweis der zellulären Herkunft experimenteller Gliome besonders gut bei den Fr ü h - s t a d i e n dieser Tumoren. Er führte Stufenschnitte an den Gehirnen von diaplazentar ANH-exponierten, 16 Wochen alten Ratten durch. Die Feinstruktur der dabei entdeckten frühen neoplastischen Zellproliferationen ließ mit großer Wahrscheinlichkeit eine Abstammung von den Zellen der subependymalen Matrixzone erkennen.

Auf die Bedeutung der subependymären Zellplatte für die Vorzugslokalisation bestimmter Hirntumoren auch beim M e n s c h e n haben J.H.GLOBUS u. H.KUHLENBECK (1944) bereits vor 35 Jahren hingewiesen. Sie betrachteten die Zellen dieser Region als Überreste embryonaler Vorstufen und sahen die Tumoren der striato-thalamischen Rinne als aus diesen embryonalen Zellen hervorgegangen an.

Aber nicht nur die in direkter Nachbarschaft zu den Seitenventrikeln lokalisierten Tumoren kann man sich als aus den Zellen der subependymären Zone entstanden vorstellen. Gewisse Befunde deuten darauf hin, daß auch die in der H i p p o c a m p u s - Region gehäuft auftretenden Gliome auf diese Zellmatrix zurückgeführt werden können. J.ALTMAN und G.D.DAS (1963, 1966a) beschreiben ein Abwandern subventrikulär gebildeter, undifferenzierter Zellen in benachbarte Regionen (v.a.Hippocampus, Stammganglien). Es wäre vorstellbar, daß diese Zellen bereits vor Beginn ihrer Migration eine kanzerogene Umwandlung erfahren haben und erst später, nach Erreichen ihres Bestimmungsortes - oder auch auf dem Wege dorthin - , ihre neoplastisch-proliferative Potenz entfalten (P.L.LANTOS u.D.J.COX, 1976). Damit ließe sich die Häufigkeit der Gliomentwicklung in den genannten Vorzugsregionen Hippocampus, Stammganglien und Corpus callosum erklären.

c) Induktionszeit, Entwicklungslatenz:

Der Zeitraum zwischen Kanzerogen-Exposition und Manifestation klinisch relevanter Symptome wird als I n d u k t i o n s z e i t oder E n t w i c k l u n g s l a t e n z (der Tumoren) bezeichnet. Der damit erfaßte Zeitbegriff ist relativ ungenau und nicht identisch mit der eigentlichen Induktionszeit, also der Dauer zwischen Exposition und Auftreten erster neoplastischer Proliferationen. Diese echte Induktionsphase läßt sich nur durch frühzeitiges Töten der Tiere und die Suche nach ersten neoplastischen Veränderungen bestimmen. Im Kapitel über die "Frühstadien experimenteller Tumoren" (s.S.51 ff.) wird hierauf näher einzugehen sein.

Grundsätzlich läßt sich feststellen, daß die Latenzzeit hauptsächlich durch die Dosis des Kanzerogens bestimmt wird; d.h., je höher die (Gesamt-)Dosis, umso niedriger die Induktionszeit. S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY (1968) konnten anhand eines großen Tumorkollektivs nach Verabreichung unterschiedlicher Kanzerogendosen folgende Dosis/Latenz-Beziehung nachweisen (Abb.3):

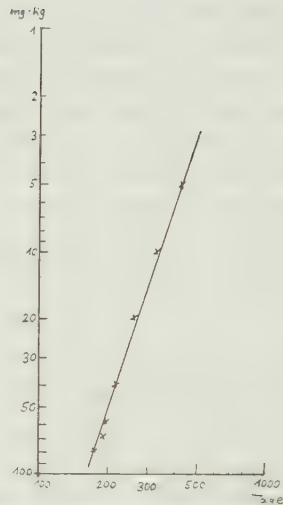


Abb. 3: Dosis/Latenz-Beziehung des Methylcholanthracen (MCA) bei Ratten. Die Latenzzeit ist in Tagen angegeben. Die Dosis ist in mg/kg angegeben. Die Kurve ist eine Hyperbel.

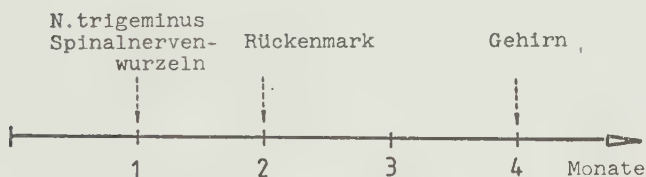
Wie bereits erwähnt, beschreibt das Auftreten erster klinischer (i.e. neurologischer) Symptome als Parameter für die Induktionszeit nur recht ungenau die eigentliche Entwicklungsdauer der Tumoren. Dies läßt sich dadurch erklären, daß in erster Linie die Tumorlokalisation über Manifestation und Ausprägung der Symptomatik entscheidet und damit ggf. eine kürzere oder längere Latenzzeit vortäuschen kann. So ist es verständlich, daß Geschwülste der peripheren Nervenplexus oder des Rückenmarks bereits in einem frühen Stadium deutliche Ausfallserscheinungen hervorrufen, da sie sich in direkter Nachbarschaft der für motorische Funktionen wichtigen Strukturen entwickeln. Hirntumoren hingegen bleiben oft solange symptomlos, bis sie auf Grund erheblicher Größenzunahme zu einer starken intrakraniellen Drucksteigerung geführt haben; dann schließt sich jedoch ein meist nur kurzes Intervall von wenigen Tagen bis zum letalen Ausgang an.

Unabhängig hiervon bestehen in den einzelnen Abschnitten des NS echte Unterschiede der Tumor-Induktionszeiten (S.IVANKOVIC u.H. DRUCKREY, 1968; W.WECHSLER et al., 1969; H.D.MENNEL et al., 1971a). S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY (1968) fanden bei 821 diaplazentär-induzierten neurogenen Malignomen folgende mittlere Induktionszeiten:

Hirnnerven (v.a. N.trigeminus):	190 $\pm$	50 Tage
RM	: 210 $\pm$	70 Tage
PNS	: 215 $\pm$	45 Tage
Gehirn	: 245 $\pm$	100 Tage

J.A.SWENBERG u.Mitarb. (1972b) kamen zu ähnlichen Ergebnissen, als sie Stufenschnitte zur Suche nach **F r ü h s t a d i e n** neurogener Tumoren anlegten:

erste neoplastische Proliferationen nach x Monaten



d) Multiple Tumoren:

Ein weiteres Phänomen der experimentellen Tumorerzeugung durch Re-sorptivkanzerogene im NS ist das gehäufte Auftreten **m u l t i p - l e r** Tumoren; man kann sogar sagen, daß bei intensiver mikrosko-pischer Untersuchung (v.a.durch Anlegen von Stufenschnitten) die Beobachtung mehrerer, meist unterschiedlich großer Neoplasmen bei ein- und demselben Tier den Regelfall darstellt. Die Multiplizi-tät des Geschwulstwachstums betrifft dabei gleichermaßen alle Ab-schnitte des NS und ist im Gehirn besonders ausgeprägt.

J.A.SWENBERG u.Mitarb. (1972a) betonen die Dosisabhängigkeit dieser multifokalen Tumorentstehung (s.u.) und kommen zu dem Ergebnis, daß die Multiplizität der Hirngeschwülste vorwiegend durch das Auftre-ten von Mikrotumoren bedingt sei, welche beinahe regelmäßig neben makroskopisch erkennbaren Neoplasmen gefunden wurden.

Dosisabhängigkeit multipler Tumoren (ÄNH/diaplazentar):

Dosis:	1 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg	50 mg/kg
neurogene Tumoren pro Ratte:	1,0	1,6	2,4	4,1

2) Frühstadien:

Im Gegensatz zur Humanpathologie, wo uns zuverlässige Kenntnisse über Frühstadien neurogener Tumoren weitgehend fehlen, bietet die tierexperimentelle Neuroonkologie die Möglichkeit zur Erforschung jener frühen morphologischen und histochemischen Veränderungen, wie sie zu Beginn des Geschwulstwachstums auftreten (W.JÄNISCH u. D.SCHREIBER, 1969; D.STAVROU, 1970 u.1971).

Von nahezu allen Autoren, die sich mit der Resorptivkanzerogenese neurogener Geschwülste befassen, werden neoplastische Frühstadien in Form fokaler Gliaproliferationen oder kleiner Tumorknötchen beobachtet, welche sich neben makroskopisch sichtbaren und möglicherweise zu neurologischen Symptomen führenden Tumoren finden lassen. Diese Anfangsstadien tumorösen Wachstums werden im Schrifttum mit verschiedenen Namen belegt, wobei die Bezeichnungen sowohl dem biologischen Verhalten als auch der unterschiedlichen Größe der Proliférate Rechnung tragen. Die nachstehend aufgeführten Benennungen finden am häufigsten Verwendung; sie lassen eine gewisse Steigerung in der Wertigkeit ihres proliferativen Verhaltens erkennen:

- "Prätumoröses Areal" oder "Oligodendroglioma-Fokus"
(E.GROSSI-PAOLETTI et al.,1972),
- 'Early cell proliferation' (P.L.LANTOS, 1977),
- 'Focal glial proliferation' (J.A.SWENBERG et al.,1972c),
- 'Early neoplastic proliferation' (M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER,1975),
- 'Early neoplastic lesion' (J.A.SWENBERG et al.,1972c),
- "Mikrotumor" (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY,1968; P.KLEIHUES et al.,
1968),
- "Mikroglom" (D.STAVROU, 1971).

Es darf als gesichert angesehen werden, daß diese Frühformen verschiedene Stadien in der Entwicklung experimenteller gliogener Tumoren darstellen.®)

Bei den prä-tumörösen Arealen, fokalen Gliaproliferaten und frühen neoplastischen Proliferationen handelt es sich um kleine Herde mit umschriebener Zellvermehrung - meist an den Prädi-lektionsstellen tumorösen Wachstums. Sie weisen noch nicht die typischen Geschwulstkriterien wie destruktives und invasives Wachstum, Mitosereichtum oder Zellpolymorphie auf. Von den einzelnen Autoren wird die eine oder die andere dieser Bezeichnungen bevorzugt, insgesamt scheinen sie jedoch ohne sichere Unterscheidung als Synonyma verwendet zu werden.

Mikrotumoren zeigen bereits charakteristische Geschwulstmerkmale, sie unterscheiden sich von den Makrotumoren lediglich auf Grund ihrer nur dem Mikroskop zugänglichen Identifizierbarkeit (A.KOESTNER et al., 1971).

Als Orientierungshilfe in der Größenzuordnung kann folgende Einteilung gelten (nach M.A.RAMADAN u. W.WECHSLER, 1975 und J.A.SWENBERG et al., 1972c):

frühe neoplastische Proliferation		bis zu 1 mm
Mikrotumor		1 - 4 mm
Makrotumor		über 4 mm

Histologie der Tumorfrühstadien:

Während in der Benennung der Tumorfrühstadien gewisse formale Unterschiede bestehen, herrscht in ihrer histologischen Zuordnung weitgehende Übereinstimmung. So beschreiben viele Autoren unabhängig voneinander ein charakteristisches Überwiegen der Oligodendroglione. Diese treten v.a. in den ersten Anfängen neoplastischer Proliferation als in Grüppchen formierte Oligodendrozyten in Erscheinung, in der Marksubstanz typischerweise auch in Form der sog. "interfaszikulären Hyperplasie" und im Cortex als perineuronale "Satellitose" (E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972). In der Regel behalten sie bei weiterer Größenzunahme zunächst ein isomorphes Gewebsbild bei. Mit fortgesetztem Größenwachstum kommt es nicht selten zu einem Hinzutreten astrozytärer Zellelemente (K.J.ZÜLCH u.H.D.MENNEL, 1971a), so daß sich in der Folge ein Mischgliom entwickelt. Dieses Phänomen wirft die interessante Frage auf, ob die experimentellen Oligodendrogliome bei ihrem Heranwachsen zu Makrotumoren grundsätzlich eine

®)siehe auch S. 43 ff.)

astrozytäre Komponente hinzuerwerben; manches spricht dafür, daß diese Mischgliome ein Ü b e r g a n g s s t a d i u m zwischen den isomorphen und den pleomorphen (Glioblastom-ähnlichen) Gliomen darstellen (D.SCHIFFER et al., 1971 ; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972). Gestützt wird diese Vermutung u.a. durch die Beobachtung von K.J.ZÜLCH u.H.D.MENNEL (1971a), daß die pleomorphen Gliome meist in die Reihe der Oligodendrogliom/Astrozytom-Mischtumoren gehören.

Nicht selten erscheinen auch bereits Tumorfrühstadien unter dem Bilde der Mischgliome (A.KOESTNER, 1971). Allerdings ist hier nicht sicher zu entscheiden, ob es sich um p r i m ä r e Mischmischgliome handelt oder um ein frühzeitiges Hinzutreten der oben erwähnten astrozytären Komponente.

Relativ selten werden Frühstadien isomorpher A s t r o z y t o m e beschrieben (J.A.SWENBERG et al., 1972c), noch seltener solche, welche den E p e n d y m o m e n zuzurechnen sind (M.A. RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975). Sehr selten scheinen auch p l e o m o r p h e Frühstadien zu sein (P.L.LANTOS, 1972; Y.ISHIDA et al., 1975).

W.WECHSLER u.Mitarb. (1969) fanden in Mikrotumoren der subependymalen Zone zahlreiche große und kleine Zellen, deren Ursprung und zytologische Zuordnung nicht sicher festgelegt werden konnten. Möglicherweise sind sie identisch mit den undifferenzierten Zellen der subependymalen Matrixplatte, welche nach Ansicht von P.L.LANTOS (1977) als Tumormutterzellen der meisten, wenn nicht sogar aller durch Resorptivkanzerogene induzierten Gliome zu betrachten sind.

Auch bei experimentell erzeugten N e u r i n o m e n sind Frühformen ausführlich beschrieben. Sie stellen sich gelegentlich als perlschnurartige Vermehrung der Schwann'schen Zellen zwischen den Markfasern des peripheren Nerven oder der Nervenwurzel dar (K.J. ZÜLCH u.H.D.MENNEL, 1971a; J.A.SWENBERG et al., 1975).

Zusammenfassend läßt sich etwa folgende histologische Typisierung der Hirntumor-Frühstadien treffen (unter Berücksichtigung ihrer Häufigkeit):

- | | |
|--------------|--|
| häufig | 1. Oligodendrogliome (isomorphe) |
| | 2. Mischgliome (Oligodendrogliom/Astrozytom) |
| seltener ... | 3. Astrozytome (isomorphe) |
| | 4. Pleomorphe Gliome |
| | 5. Ependymome, Gliopendymome. |

Vorzugslokalisationen der Frühstadien:

Wie bereits in einem früheren Kapitel dargestellt (s.S.45 ff), zeichnen sich die experimentellen neurogenen Geschwülste durch bestimmte Vorzugslokalisationen aus. Besonders gut sichtbar wird dies am Verhalten der Tumorfürhstadien, da hier der primäre Ausgangspunkt der Geschwulstentwicklung noch eindeutiger zu bestimmen ist als bei den Makrotumoren, welche durch infiltratives oder expansives Wachstum ihren Entstehungsort bereits weit überschritten haben.

Als P r ä d i l e k t i o n s o r t e neoplastischen Wachstums im G e h i r n werden gefunden:

- der periventrikuläre Raum, v.a. die laterale Wand der Vorderhörner (Zusammenhang mit der subependymalen Matrixzone ?)
- die Hippocampus - Region
- der Winkel zwischen Corpus callosum und den Stammganglien

M u l t i f o k a l e s Wachstum:

Sehr oft werden die Geschwulstfrühstadien in Kombination mit bereits makroskopisch sichtbaren Tumoren angetroffen (J.A.SWENBERG et al., 1972a), häufig treten die Mikrotumoren als solche auch multipel auf. K.J.ZÜLCH (1971) weist darauf hin, daß man bei Anwendung sorgfältiger mikroskopischer Untersuchungsmethoden gewöhnlich i m m e r auf mehrere Herde neoplastischer Proliferation stoßen kann.

Die Festlegung der genauen Zahl von Einzeltumoren ist praktisch nicht möglich, da diese oft in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander stehen (W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969). Entsprechen sich benachbarte neoplastische Herde in ihrem histologischen Aufbau, so ist nicht sicher zu entscheiden, ob es sich um mehrere Proliferationszentren innerhalb e i n e s Tumors handelt oder aber tatsächlich um unabhängig voneinander sich entwickelnde m u l t i p l e Geschwülste. Auch hier bietet das Studium der Tumorfürhstadien die Möglichkeit einer genaueren Differenzierung, da diese sich noch wesentlich abgegrenzter darstellen als die möglicherweise bereits konfluierenden großen Geschwulstherde.

Des weiteren läßt sich die genaue Anzahl multipler Tumoren pro Einzeltier auch nur dadurch exakt bestimmen, daß man das gesamte ZNS einschließlich Rückenmark und Nervenwurzeln in S t u f e n s c h n i t t e zerlegt und untersucht - ein mit sehr großem Arbeitsaufwand verbundenes Unterfangen. Um einen ungefähren Anhalt über die Häufigkeit multipler neurogener Geschwülste nach Applikation von Nitrosamiden zu gewinnen, haben W.JÄNISCH u. D. SCHREIBER (1969)

unter Verzicht auf diese ausführliche Stufenschnitt-Präparation alle diejenigen Tumoren als sicher selbständig aufgefaßt, welche die folgenden beiden Kriterien erfüllten:

1. Die Geschwülste sind in weit voneinander entfernt liegenden Abschnitten des NS lokalisiert, ohne daß sich histologisch eine Verbindung zwischen ihnen nachweisen läßt.
2. Die histologische Struktur der Geschwülste ist unterschiedlich.

Neben der multifokalen Tumorentstehung weisen diese Autoren auch auf die Möglichkeit der M e t a s t a s i e r u n g primär intrakranieller Geschwülste a u f d e m L i q u o r w e g e hin. Sie konnten bei einigen Tieren kleine Tumorzellgruppen auf den Ventrikelwandungen und im Subarachnoidalraum des Rückenmarks finden, welche oft nur in den Anfängen ihrer Entwicklung von primär multizentrisch-entstandenen Tumorherden zu unterscheiden waren.

F r ü h e s t e r Z e i t p u n k t neoplastischer Proliferation im NS:

Um festzustellen, nach welchem Zeitraum erste neoplastische Proliferationen experimentell induzierter H i r n-Tumoren auftreten, untersuchten P.L.LANTOS u.D.J.COX (1976) die Gehirne von diaplazentär ANH-exponierten Ratten. Hierzu töteten sie die Tiere nach bestimmten Zeitintervallen (2, 4, 6, 8, 10 und 12 Wochen) und legten Stufenschnitte der Gehirne an. Dabei fanden sie zum ersten Mal nach 8 Wochen vereinzelt kleine proliferierende Zellherde, welche offenbar neoplastisch-transformierten, undifferenzierten Zellen der subependymalen Zone entsprachen. Nach 12 Wochen wiesen bereits a l l e untersuchten Gehirne derartige Tumorfrühstadien auf, in mehreren Fällen handelte es sich um m u l t i p l e Neoplasmen. Den Beweis ihrer neoplastischen Natur sahen LANTOS und COX darin, daß diese ersten Geschwulstherde sowohl in ihrer Vorzugslokalisation als auch in der Multiplizität ihres Auftretens mit den bei experimentellen Gliomen älterer Tiere erhobenen Befunden übereinstimmten. Sie repräsentieren somit die frühesten morphologisch identifizierbaren Entwicklungsstadien von Hirntumoren.

K.TAOMOTO (1976) findet ebenfalls bei 12 Wochen alten Tieren in fast allen Gehirnen Mikrotumoren von weniger als 1 mm Durchmesser. Er klassifiziert sie als isomorphe Oligodendrogliome und Oligo/Astro-Mischgliome.

Im R ü c k e n m a r k werden erste fokale Gliaproliferationen nach 9 Wochen und Mikrotumoren nach etwa 12 bis 13 Wochen beschrieben (J.SWENBERG et al.,1972b).

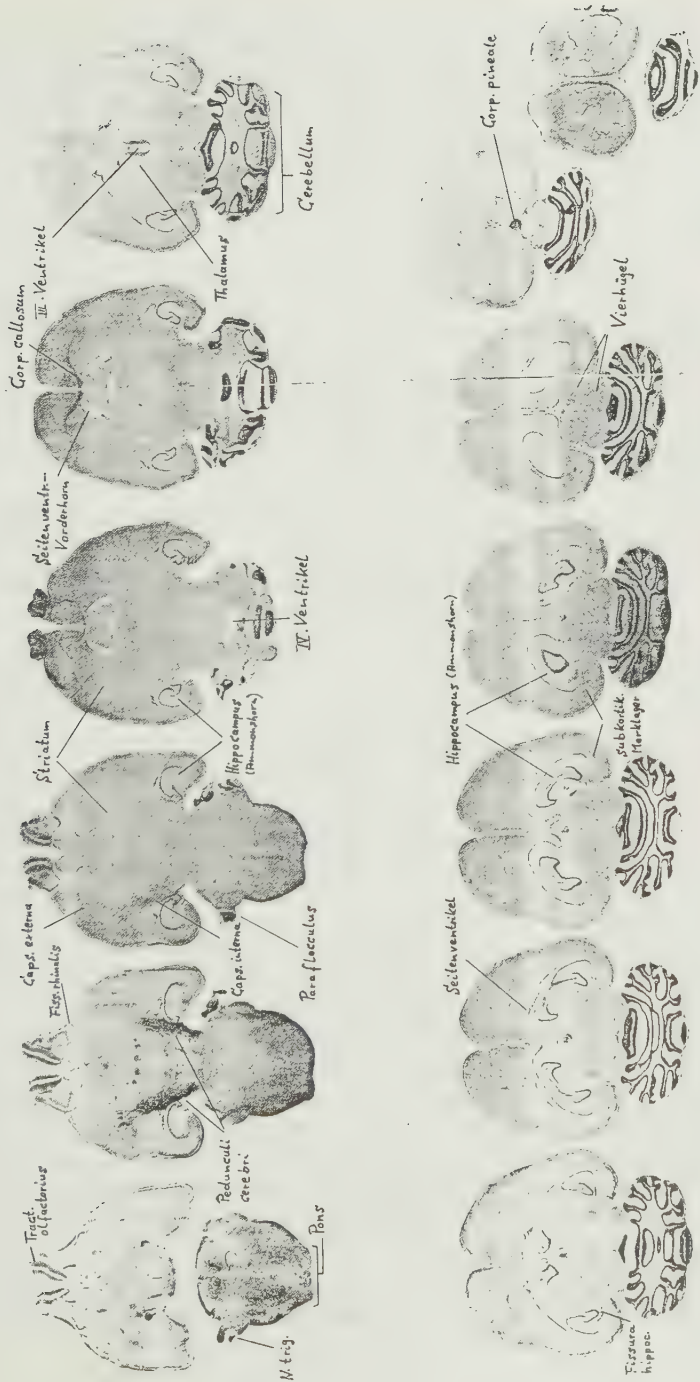
Die kürzeste Entwicklungsdauer scheinen die Tumoren des p e r i - p h e r e n N e r v e n s y s t e m s aufzuweisen. J.A.SWENBERG u.Mitarb. (1975) finden schon im Alter von 3 Wochen in etwa der Hälfte aller untersuchten Trigemini-Nerven frühe neoplastische Veränderungen, v.a. im präganglionären Abschnitt am ZNS/PNS-Übergang. Nach 9 Wochen zeigten sich in 80% der Nn.trigemini Tumorproliferate, in einem Fall handelte es sich um ein bereits makroskopisch sichtbares Neurinom.

Die oben genannten Autoren verwendeten ÄNH in einer Dosis von 40 - 50 mg/kg. Lediglich im Falle der zuletzt beschriebenen Neurinome (J.A.SWENBERG et al.,1975) wurde die hohe Gesamtdosis von 100 mg/kg injiziert, was natürlich unter Berücksichtigung der Dosis/Latenz-Beziehung (siehe Abb.3) die Beobachtung dieses frühzeitigen Geschwulstbeginns relativiert.

T a f e l I / I' : Die wesentlichen anatomischen Strukturen des Rattenhirns



Tafel I:



3) Vergleichbarkeit mit den neurogenen Geschwülsten des Menschen:

Im Mittelpunkt jeglicher experimentellen Tumorerzeugung steht die Frage nach der Übertragbarkeit der Befunde auf die m e n s c h - l i c h e Geschwulstpathologie (formale und kausale Pathogenese). So ist auch für die Ausdeutung der tierexperimentellen neurogenen Geschwülste von zentraler Bedeutung, ob sie mit den menschlichen Tumoren vergleichbar sind.

Bei der Auswertung von mehr als 950 mit Resorptivkanzerogenen erzeugten Hirn-, Rückenmarks- und peripheren Nerventumoren kommen H.D.MENNEL u.K.J.ZÜLCH (1972) zu folgenden Ergebnissen:

Die M o r p h o l o g i e der meisten experimentellen Tumoren entspricht in Zell- und Gewebsbild den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Typen. - Allerdings ergeben sich folgende Besonderheiten:

- ein in der Regel h ö h e r e r M a l i g n i t ä t s g r a d , sowohl bei den Gliomen als auch bei den Neurinomen. "Reine" Gewebsbilder finden sich lediglich in den Frühstadien (z.B. isomorphe Oligodendrogliome)
- das häufigere Auftreten von h e t e r o m o r p h e n Hirntumoren, d.h. M i s c h g l i o m e n und ependymär-gliomatösen M i s c h t u m o r e n
- das fast regelmäßig anzutreffende m u l t i l o k u l ä r e Wachstum, welches in der menschlichen Neuropathologie nur selten beobachtet wird (gehäuft lediglich bei gewissen Phakomatosen wie Neurofibromatose v.Recklinghausen, Bourneville-Pringle-Syndrom, etc.)

Es spricht vieles dafür, daß ein Teil dieser Charakteristika (Multiplizität, höhere Malignitätsstufe) auf die Massivität des kanzerogenen Reizes bei der experimentellen Tumorerzeugung zurückzuführen ist. Dies läßt sich u.a. aus der bereits früher beschriebenen Dosisabhängigkeit von Tumorinzidenz und Geschwulst-Pleomorphie ableiten (s.S.33). Die höhere Malignität braucht aber nicht allein ein Kennzeichen e x p e r i m e n t e l l e r Tumoren zu sein, denn wie A.J.NEWMAN u.L.E.MAWDESLEY-THOMAS (1974) sowie D.STAVROU (1971) zeigen konnten, zeichnen sich auch die s p o n t a n e n neurogenen Tumoren der Nagetiere durch eine in der Regel größere Malignität aus.

Die Vergleichbarkeit mit den aus der Humanpathologie bekannten Daten schränkt K.J.ZÜLCH (1971) dahingehend ein, daß er das nahezu völlige

Fehlen b e n i g n e r Hirntumoren im Tierexperiment hervorhebt: Meningeome, polare Spongioblastome und Angioblastome sind in seinem sehr umfangreichen Tumormaterial unverhältnismäßig selten bzw. fehlen ganz. - Ebenso weist er einschränkend auf das nur in seltenen Ausnahmen beobachtete Auftreten des im Kindesalter so häufigen Medulloblastoms hin.

Auch einige weitere für die menschliche Neuropathologie charakteristische Phänomene wie t o p i s c h e P r ä d i l e k t i o n sowie G e s c h l e c h t s - und A l t e r s a b h ä n g i g - k e i t bestimmter Hirntumoren sind seinen Befunden entsprechend bei den experimentellen Geschwülsten weniger deutlich ausgeprägt (K.J.ZÜLCH, 1969).

Unter Berücksichtigung der obengenannten Einschränkungen läßt sich zusammenfassend feststellen, daß die experimentell induzierten neurogenen Tumoren der Ratte in mancher Hinsicht durchaus den aus der menschlichen Neuropathologie bekannten Geschwülsten v e r g l e i c h - b a r sind und sich somit als Tumormodell eignen. Nach G.KERSTING (1965) entsprechen die isomorphen Gliome in etwa den menschlichen Oligodendrogliomen, Astrozytomen und Großhirnependymomen, die pleomorphen Gliome am ehesten dem menschlichen Glioblastoma multiforme. Er betont jedoch, daß sich auch für die Hirngeschwülste die "bekanntermaßen erhöhte Verwilderungstendenz e x p e r i m e n t e l l e r Tumoren" bestätige, was einen Vergleich mit histologisch ähnlichen Geschwülsten des Menschen von vorneherein erschwere.

IV Tumorerzeugung auf diaplazentarem Wege:

1) Historische Entwicklung, besondere Vorteile:

Die ersten Berichte über eine transplazentare Tumorerzeugung im Tierversuch stammen von C.D.LARSEN (1947) und W.E.SMITH u.P.ROUS (1948), die nach Gabe von Urethan an trächtige Mäuse ein vermehrtes Auftreten von Lungenadenomen bei den Nachkommen beobachten konnten.

Die diaplazentare Erzeugung maligner Tumoren des N e r v e n s y - s t e m s wurde zum ersten Mal beschrieben von S.IVANKOVIC et al. (1966), unter Verwendung von Äthylnitrosoharnstoff. Nachdem die besondere Eignung dieser Substanz in mehr als 800 Fällen neurogener Malignome eindrucksvoll demonstriert worden war (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968), konnten H.DRUCKREY u.Mitarb.(1968) auch eine diaplazentare Wirksamkeit bei Diäthylhydrazin, Azo- u. Azoxyäthan nachweisen.

Die besonderen Vorteile dieser Methode liegen

- a) in der h o h e n T u m o r i n z i d e n z , die von einigen Autoren mit 100 % angegeben wird (H.DRUCKREY et al., 1970a;

- M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975; R.WARZOK et al.,1977), bei genügend hoher Dosierung grundsätzlich 90 % und mehr beträgt.
- b) in der großen W i r k s a m k e i t b e i n i e d r i - g e r K a n z e r o g e n - D o s i s , welche auf einer etwa 50-fach höheren blastomogenen Empfindlichkeit des NS während der Perinatalperiode beruht (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968). Selbst bei der niedrigen Dosis von nur 2 % der LD₅₀ (5 mg/kg) wurde noch eine Tumorausbeute von 63 % erzielt. Die Bedeutung toxischer Nebenwirkungen auf das Muttertier und den Wurf ist somit gering zu veranschlagen.
 - c) in der besonderen N e u r o t r o p i e der Geschwulsterzeugung, welche ebenfalls auf die erhöhte Empfindlichkeit des NS gegenüber blastomogenen Reizen zurückzuführen ist.

Es zeigte sich, daß eine diaplazentare Tumorerzeugung n i c h t v o r d e m 12 . T a g d e r T r ä c h t i g k e i t m ö g - l i c h i s t und auch innerhalb der anschließenden sensiblen Phase deutliche Unterschiede bezüglich Inzidenz und Tumorlokalisation bestehen (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968). *)

2) Theoretische Grundlagen:

Ihre besondere Bedeutung erlangt die transplazentare Erzeugung neurogener Tumoren aus der hohen E m p f i n d l i c h k e i t d e s N S i n d e r P r ä n a t a l p e r i o d e . Wie im Kapitel über den Neurotropismus chemischer Resorptivkanzerogene (s.S.22 ff.) bereits näher ausgeführt, sind für die besondere Sensibilität dieser Phase mehrere Faktoren von kausaler Bedeutung:

- a) funktionelle Differenzierungsvorgänge
- b) hohe proliferative Aktivität
- c) gesteigerte funktionelle Aktivität
- d) Unreife von Repairmechanismen (mit einer daraus resultierenden erniedrigten Elimination kanzerogen-veränderter Genstrukturen).

Alle diese genannten Faktoren kommen bei diaplazentarer Exposition zum Tragen, wobei möglicherweise die unter d) genannte "Unreife von Repairmechanismen" eine besondere Rolle spielt (R.GOTH u.M.F. RAJEWSKY, 1974a; G.P.MARGISON u.P.KLEIHUES, 1975; M.F.RAJEWSKY,1977).

*) siehe hierzu auch S.61.

Plazentapassage: Grundlegende Voraussetzung einer pränatalen Tumorerzeugung ist die Möglichkeit des Übertritts karzinogener Substanzen (in unveränderter Form oder als aktiver Metabolit) vom mütterlichen in den fetalen Organismus. Für die kurzlebigen Alkylnitrosamide MNH u. ANH ist das Überwinden der sog. Plazentarschranke in unveränderter Form nachgewiesen (H.DRUCKREY, 1973). Diese Passage scheint bereits in einem frühen Stadium der Intrauterinphase möglich zu sein, denn schon am 4.Tag nach der Konzeption führt die Kanzerogen-Exposition zu Missbildungen am Gehirn (H.DRUCKREY, 1973a) eine Tumorerzeugung findet jedoch erst nach dem 12.Tag p.c. statt (s.o.).

Applikationszeitpunkt: Die intrauterine Entwicklung der Ratte zerfällt in drei Abschnitte (N.P.NAPALKOV u.V.A.ALEXANDROV, 1968):

1. Trächtigkeitswoche: Teilung und Implantation der Zygote
2. " " : Organogenese
3. " " : fetales Wachstum und Reifung

Diese Phasen weisen eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber der teratogenen und blastomogenen Wirksamkeit der Resorptivkanzerogene auf. Abb. 4 zeigt das zeitlich gestaffelte Spektrum der jeweils im Vordergrund stehenden Hauptwirkung. Dabei ist nicht nur eine Verschiebung zwischen Teratogenese und Kanzerogenese zu beobachten, sondern bei beiden auch ein im zeitlichen Verlauf wechselndes Organspektrum.

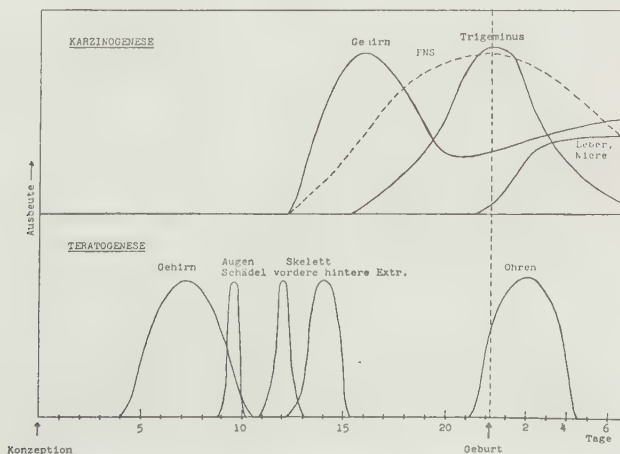


Abb. 4: Sensible Perioden verschiedener Organe von BD-Ratten bei diaplazentärer u. neonataler Kanzerogenese u. Teratogenese. (nach H.DRUCKREY, 1973)

Erhöhte Tumorzinzidenz in den folgenden F i l i a l g e n e -
r a t i o n e n :

Von L.TOMATIS u.Mitarb.(1975, 1977) wurde eine deutlich erhöhte Inzidenz neurogener Tumoren auch in den folgenden Generationen (F_2 , F_3) beobachtet, nachdem die F_1 -Generation pränatal gegenüber MNH bzw. ANH exponiert worden war. Dies zeigt, daß der intrauterine Kontakt mit einer kanzerogenen Substanz in einem erhöhten Tumorrisiko resultiert, welches - abgeschwächt - bis in die nächsten Generationen fortdauert.

3) Methodik:

Von H.DRUCKREY (1973) wurde eine große Anzahl diaplazentar-wirksamer Kanzerogene nachgewiesen (s.Tafel **II**), welche nahezu ausschließlich n e u r o g e n e Tumoren erzeugen.

Tafel II: Zusammenstellung der wichtigsten d i a -
p l a z e n t a r wirksamen Resorptiv-
kanzerogene.
(nach J.A.SWENBERG et al., 1972a und
H.DRUCKREY, 1973)

Dimethyl-, Diäthylnitrosamin

Azo-, Azoxyäthan

1,2-diäthylhydrazin

Triazene

Methylnitroscharnstoff

Äthylnitroscharnstoff

Äthylnitrosbiuret

Methylcholanthren

Dimethylbenzanthrazen

Benzpyren

Cycasin

Die besten Resultate (hohe Inzidenz bei niedriger Dosis) lassen sich mit dem Acylalkylnitrosamid Ä N H erzielen. In der transplazentaren Erzeugung von Geschwülsten des NS hat es deshalb mit Abstand die größte Bedeutung erlangt.

Die Wirksamkeit dieser Methode ist uneingeschränkt hoch, unabhängig von der Wahl verschiedener Applikationsformen. So kann das trächtige Muttertier durch i n t r a v e n ö s e , p e r o r a l e ,
i n t r a p e r i t o n e a l e und
s u b k u t a n e Applikation mit dem
Kanzerogen in Kontakt gebracht werden, wobei bei der peroralen Verabreichung auch Kanzerogen-Vorstufen wirksam werden (vergl. Tab.1, S.19).

4) Tumorbildung beim Muttertier:

Im Vergleich zur Nachkommenschaft ist beim Muttertier die Induktionsrate neurogener Tumoren mit etwa 6% (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968) deutlich niedriger. Häufiger dagegen werden Geschwülste der M a m m a e , des U t e r u s , der V a g i n a und der O v a - r i e n beobachtet (V.A.ALEXANDROV, 1969; L.TOMATIS et al., 1975). Dies wird mit der besonderen funktionellen Aktivität dieser Organe während der Gravidität und der daraus resultierenden höheren Empfindlichkeit gegenüber dem kanzerogenen Reiz erklärt (s.auch S.26).

5) Weitere, nicht-kanzerogene Wirkungen:

a) auf den e m b r y o n a l e n bzw. f e t a l e n Organismus:

Letalwirkung: Die LD₅₀ ist für den fetalen Organismus wesentlich niedriger als für das erwachsene Tier. Sie beträgt bei ÄNH 80 mg/kg KG - gegenüber 240 mg/kg KG (H. DRUCKREY, 1973). Bei Applikation der zuerst genannten Dosis stirbt also etwa die Hälfte der Tiere bereits intrauterin ab.

Teratogenität: Schon wenige Tage nach der Konzeption kommt es bei Exposition des Rattenembryos gegenüber den bekannten kanzerogen-wirksamen Substanzen zu M i ß b i l d u n - g e n (H.DRUCKREY, 1973a). Diese zeigen im zeitlichen Verlauf eine charakteristische Organverteilung (s.Abb.4), wobei die maximale teratogene Empfindlichkeit des Embryos am 10.Tag p.c. anzutreffen ist (V.A.ALEXANDROV u.W.JÄNISCH, 1971). Folgende Mißbildungen finden sich am häufigsten:

Hydrozephalus, Anenzephalus, Anophthalmie;

Skelettdeformitäten: Dismelie, Amelie, Ekto-, Syn- u.

Oligodaktylie; Gaumenspalte.

Entwicklungshemmung: Neben einer allgemein zu beobachtenden Wachstumshemmung mit Minder- oder Zwergwuchs findet sich gelegentlich eine Unterentwicklung einzelner Organe, wie Mikrozephalie oder Kleinhirnhypoplasie (Y.ISHIDA et al., 1975).

b) auf den m ü t t e r l i c h e n Organismus:

toxische Akutwirkung: Die akute toxische Wirkung äußert sich in Leberzellschäden, Blutungen im Gastrointestinaltrakt und in der Lunge, Schädigung des lymphatischen Gewebes und des Knochenmarks. Bei hoher Dosierung kommt es zur

Letalwirkung (LD_{50} ÄNH = 240 mg/kg KG), der Tod tritt unter Gewichtsverlust und Haarausfall innerhalb von 8 - 10 Tagen ein (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968).

Laktationshemmung: Bei einer ÄNH-Dosis von 60 mg/kg KG und mehr kommt es zu erheblicher Beeinträchtigung der Milchbildung. Dieses 'Dose limit' ist bei Versuchen zur Tumorerzeugung zu beachten, da eine Laktationsstörung die Aufzucht der Jungtiere erschwert und zu beträchtlichen Verlusten führen kann (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968).

V Tumorinduktion außerhalb des Nervensystems:

Die experimentelle Tumorinduktion mit Resorptivkanzerogenen beschränkt sich nicht nur auf neurogene Geschwülste, wenngleich bei diaplazentarer Applikation außerneurale Tumoren weit in den Hintergrund treten.

In Abhängigkeit vom methodischen Vorgehen gelingt in nahezu allen Organen die Erzeugung von Neoplasmen:

1) Wahl des Kanzerogens:

Verschiedene Resorptivkanzerogene führen bevorzugt oder ausschließlich zu außerneuralem Tumoren: Dialkylnitrosamine zu Ösophagus-Tumoren, Alkylnitrosourethan zu Lungenkrebs, andere N-Nitrosoverbindungen zu Geschwülsten der Niere, Leber und Blase (H.DRUCKREY et al., 1967).

2) Applikationszeitpunkt:

Aber auch die typischen neurotrop wirksamen Substanzen wie ÄNH u.MNH sind unter bestimmten Voraussetzungen zur Induktion von Tumoren außerhalb des NS in der Lage, wobei der Applikationszeitpunkt eine entscheidende Rolle spielt. So verschiebt sich mit zunehmendem Alter des Versuchstieres das Organspektrum zugunsten extraneuraler Geschwülste: Leukämien, Nephroblastome, Mammatumoren, Neoplasmen des Uterus, der Ovarien und des Darmtraktes.

3) Dosis und Dosisverteilung:

Die bevorzugte Entwicklung außerneuralem Tumoren beobachtet man bei der Applikation einer hohen Einzeldosis von MNH (während die chronische intravenöse Injektion niedriger Einzeldosen derselben Substanz nahezu selektiv zu neurogenen Geschwülsten führt).

VI Spontane Tumoren im NS der Ratte:

Bei der Beurteilung der Wertigkeit einer experimentellen Tumorerzeugung im NS der Ratte ist auch die S p o n t a n i n z i - d e n z dieser Geschwülste zu berücksichtigen. Dabei zeigt sich, daß die Häufigkeit spontaner neurogener Tumoren bei dieser Spezies sehr gering zu veranschlagen ist (weit unter 1%, s.u.) und somit kaum einen Einfluß auf die experimentellen Ergebnisse ausübt.

L.E.MAWDESLEY-THOMAS u.A.J.NEWMAN (1974) konnten in einem Zeitraum von 5 Jahren ein ausgedehntes Sektionsgut überblicken, welches 41 000 Gehirne von Laboratoriums-Ratten umfaßte. Sie fanden dabei 35 Spontantumoren, was einer Inzidenz von 0,8% entspricht. Im einzelnen handelte es sich dabei um folgende Tumortypen:

Meningeom	37 %
Astrocytom	29 %
wenig differenzierter Gliazelltumor	14 %
Glioblastoma multiforme	11 %
Oligodendrogliom	9 %

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch andere Autoren, wobei jedoch Unterschiede zwischen einzelnen Rattenstämmen deutlich werden (nach W.JÄNISCH u.D.SCHREIBER, 1969):

M.GUERIN (1954): bei 16 500 Ratten nur 4 primäre Geschwülste des ZNS (3 Gliome, 1 Meningeom) $\hat{=}$ 0,24%

CH.GILBERT u.J.GILLMAN (1958): bei 1 342 Ratten 1 Meningeom und 1 Gliom $\hat{=}$ 1,5%

J.E.FITZGERALD et al.(1974): bei 7 803 Ratten 32 Tumoren des ZNS (22 Astrocytome, 4 Ependymome, 3 Oligodendrogliome, 3 Meningeome) $\hat{=}$ 4,8%.

Besonders niedrig ist offenbar die Spontaninzidenz von N e u r i n o m e n der Ratte. H.LUGINBÜHL u.Mitarb. (1968) erwähnen in einer umfangreichen Zusammenstellung von Spontangeschwülsten des NS im Veterinärbereich keinen einzigen Tumor dieses Typs bei der Ratte; Neurinome fehlen auch in dem großen Sektionsgut von J.E.FITZGERALD et al.(1974).

L.TOMATIS u.Mitarb. (1977) beobachteten eine männliche Ratte, welche im Alter von 2 Jahren mit einem von einer Nervenwurzel ausgehenden Neurinom verstarb.

Im histologischen Aufbau sind die beschriebenen Spontantumoren den entsprechenden experimentell-induzierten Geschwülsten vergleichbar, insbesondere wird auch hier eine gegenüber menschlichen Tumoren erhöhte Malignität gefunden.*)

Deutlich verschieden ist jedoch die Latenzperiode der Geschwulstentwicklung, welche bei den experimentellen Neoplasmen - in Abhängigkeit von der Dosis - durchschnittlich bei 150 - 250 Tagen liegt, bei den spontanen Tumoren hingegen im Mittel ca. 520 Tage beträgt (J.E.FITZGERALD et al.,1974). Ein Vergleich des Tumorspektrums (s.auch Tab.2, S.42) läßt auch hier gewisse Unterschiede erkennen, wobei die besondere Häufigkeit spontaner M e n i n g e o m e hervorzuheben ist.

II Experimentelle Tumorerzeugung im Nervensystem anderer Tierspezies:

Um die Wertigkeit und allgemeine Bedeutung der neurotrophen Resorptivkanzerogene in einem größeren Rahmen aufzuzeigen, müssen diese Substanzen auch bei anderen Tierspezies auf ihre blastomogene Potenz hin untersucht werden.

Neben der R a t t e erweisen sich auch verschiedene andere Arten als empfindlich gegenüber der neuroonkogenen Wirksamkeit der Resorptivkanzerogene. P.KLEIHUES et al.,(1970b) berichten über MNH-induzierte Hirntumoren beim K a n i n c h e n ; R.WARZOK u.Mitarb. (zit.aus G.u.M.KUPFER, 1971) gelang die Erzeugung zerebraler Tumoren bei H u n d e n , ebenfalls mittels MNH; C.E.SEARLE u.E.L.JONES (1974,1976) beschreiben Hirntumoren bei M ä u s e n nach ÄNH-Gabe.

Allerdings liegt bei allen diesen Tierarten die Tumorrare weitestgehend niedriger als bei Ratten.

Eine wesentliche Aufgabe dieser Versuche besteht darin, die Bedeutung bekannter Resorptivkanzerogene für die Entstehung neurogener Tumoren b e i m M e n s c h e n zu bestimmen. Aus diesem Grunde wurden auch Versuche zur Geschwulsterzeugung im NS höherer Säugetiere und der Primaten unternommen. G.u.M.KUPFER (1971) beschreiben die Applikation von MNH bei S c h a f e n , S c h w e i n e n und A f f e n . Ein Nachweis neurogener Neoplasmen gelang nicht, von den Autoren wurde jedoch auf die Notwendigkeit eines längeren Beobachtungszeitraumes hingewiesen. Zu ähnlichen Ergebnissen führten Versuche von R.WARZOK u.Mitarb. (1977) zur Erforschung der d i a p l a z e n t a r e n Wirksamkeit von ÄNH bei Ratten, Kaninchen, Goldhamstern, Meerschweinchen, Hunden und Rhesusaffen.

*) s.auch S.58

D/ Bedeutung der tierexperimentellen Tumorerzeugung für die neuro-onkologische Forschung beim Menschen:

I Erfordernis eines Tumormodells für vergleichende Untersuchungen der

- - Ätiologie, Pathogenese
- Histomorphologie, Histochemie
- therapeutischen Beeinflußbarkeit.

Ein vordringliches Ziel aller Tumorforschung ist die Klärung der u r s ä c h l i c h e n F a k t o r e n neoplastischen Wachstums - insbesondere die Suche nach äußeren Noxen, für welche eine tumor-erzeugende Wirksamkeit nachgewiesen werden kann. Bei gewissen Organ-Neoplasien ist dieser kausale Zusammenhang zwischen Tumorentstehung und kanzerogenem Agens bereits gesichert: z.B. Burkitt-Lymphom durch das Epstein-Barr- V i r u s, Leukosen durch radioaktive S t r a h - l u n g, Blasengeschwülste durch c h e m i s c h e S u b s t a n - z e n (Anilinderivate). Gerade auf dem Gebiet der chemischen Kanzerogene hat sich mittlerweile eine sehr große Anzahl verschiedenster Substanzen ergeben, deren potentielle Gefährlichkeit für den Menschen abgeklärt werden muß. Neben epidemiologischen Untersuchungen ist der Tierversuch das wichtigste Arbeitsmittel zum Nachweis der blastomo-genen Potenz dieser Stoffe.

Nicht nur zur Klärung ätiologischer Probleme ist die tierexperimen-telle Tumorerzeugung ein entscheidendes Hilfsmittel geworden, sondern auch hinsichtlich allgemeiner Fragestellungen in Bezug auf die f o r - m a l e P a t h o g e n e s e sowie m o r p h o l o g i s c h e und h i s t o c h e m i s c h e Besonderheiten der einzelnen Organ-tumoren.

Dies gilt insbesondere auch für die Human-Neuroonkologie, ist doch das Nervensystem auf Grund seiner anatomischen Abgeschlossenheit und funktionellen Empfindlichkeit invasiven Untersuchungen weit weniger zugänglich als die übrigen Organe - wie z.B. der Entnahme von Ge-schwulstproben zur Verlaufskontrolle des Proliferationsverhaltens un-ter therapeutischen Maßnahmen (Radiatio, Cytostase) oder zur Erfor-schung formalpathogenetischer Entwicklungen bei frühen neoplastischen Veränderungen (z.B. 'Early cancer' des Magens). Es ist deshalb gerade auf diesem Teilgebiet der Geschwulstforschung ein tierexperimentelles T u m o r m o d e l l notwendig, das in vergleichend-pathologischen Studien auf die genannten Fragestellungen hin untersucht werden kann. Welche Anforderungen an ein brauchbares Tumormodell gestellt werden

müssen, wurde bereits in Kapitel A/I (S.3) erläutert.

Ein weiterer wesentlicher Anwendungsbereich der experimentell erzeugten Tumoren liegt in ihrem Einsatz zur Erprobung neuer t h e r a - p e u t i s c h e r Verfahren. Auf dem Gebiet der Neuroonkologie sind dies v.a. Versuche zur Chemotherapie, Strahlenbehandlung und Immuntherapie neurogener Geschwülste. Als besonders geeignet erweist sich hierbei die Methode der homologen Tumortransplantation, da mit diesem Verfahren nahezu unbegrenztes Geschwulstmaterial zur Verfügung steht: Versuche zur Chemotherapie von M.BARKER et al., 1973; W.R.SHAPIRO et al., 1970; W.R.SHAPIRO, 1971; H.WALDBAUR et al., 1978; zur Strahlenbehandlung von M.G.NETSKY u.Mitarb. (1956), F.L.EDELMAN u.Mitarb. (1964); zur Immuntherapie von L.M.DAVIDOFF (1965)*). Auch in die experimentelle Neurochirurgie haben diese Modelltumoren Eingang gefunden (W.JÄNISCH, D.SCHREIBER, 1969).

II Vergleichbarkeit:

Bei der Bewertung der Ergebnisse tierexperimenteller Tumorerzeugung ist die Frage nach der Ü b e r t r a g b a r k e i t auf die menschliche Geschwulstpathologie von entscheidender Bedeutung. Dies gilt nicht nur hinsichtlich histomorphologischer und wachstumsbiologischer Tumoreigenschaften (auf die bereits in Kap. C/III 3, S.58 ff. vergleichend eingegangen wurde), sondern v.a. auch bezüglich ä t i o - l o g i s c h e r Aspekte. Dies nicht zuletzt deshalb, weil heute das Hauptaugenmerk auf die Suche nach ursächlichen Faktoren des Geschwulstwachstums und auf deren Ausschaltung im Sinne einer Expositionsprophylaxe gerichtet sein muß.

Es stellt sich deshalb immer wieder die Frage, ob den im Tierversuch als kanzerogen erkannten Noxen auch eine kausale Bedeutung für die Geschwulstentstehung beim Menschen zukommt. Bei F.D.DALLENBACH (1973) findet sich die allgemeine Feststellung, daß zwar alle für den Menschen kanzerogenen Substanzen auch bei Tieren Tumoren induzieren, nicht aber umgekehrt alle im Tierversuch wirksamen Kanzerogene auch für den Menschen tumorerzeugend sein müssen.

Die zur Klärung formal- und kausalpathogenetischer Fragen bei der Entstehung neurogener Tumoren d e s M e n s c h e n herangezogenen Ergebnisse der tierexperimentellen Neuroonkologie werden von den einzelnen Autoren teilweise sehr unterschiedlich beurteilt. Während z.B.ZÜLCH und MENNEL - abgesehen von ihren Vorbehalten gegenüber einer morphogenetischen Vergleichbarkeit experimenteller und menschlicher Tumoren***) - die Bedeutung e x o g e n e r Faktoren für die Entstehung neurogener Tumoren des Menschen sehr zurückhaltend bewerten (K.J.ZÜLCH, 1969; H.D.MENNEL u.

*) zit. aus W.JÄNISCH u. D.SCHREIBER, 1969.

**) s. auch S.58.

K.J.ZÜLCH, 1972), gehen H.GÜTHERT u.R.WARZOK (1974) von der Annahme aus, "daß die überwiegende Mehrzahl der menschlichen Hirntumoren durch resorptiv wirksame chemische Karzinogene entsteht".

Wenngleich die Beteiligung exogener Faktoren an der Geschwulsterzeugung im menschlichen Nervensystem quantitativ und qualitativ noch nicht soweit gesichert ist, um die Radikalität dieser Aussage zu rechtfertigen, läßt doch die zu beobachtende Zunahme gerade auch von neurogenen Tumoren im Kindesalter Zusammenhänge mit einer gesteigerten Exposition gegenüber kanzerogenen Noxen in der Umwelt vermuten.

III Bedeutung chemischer Resorptivkanzerogene für die Entstehung neurogener Tumoren des Menschen:

1) Natürliche und künstliche Kanzerogene in der Umwelt, möglicher Zusammenhang mit der Erzeugung neurogener Tumoren beim Menschen:

Wie im vorhergehenden Kapitel gezeigt wurde, gehen die Ansichten über eine mögliche Erzeugung neurogener Tumoren beim Menschen durch äußere Einflüsse, v.a.durch die im Tierversuch nachweislich neurotrop-onkogen wirkenden chemischen Resorptivkanzerogene, weit auseinander. Aber weder den Befürwortern noch den Kritikern dieser Theorie ist bisher ein eindeutiger Beweis der Richtigkeit ihrer Vorstellungen gelungen. Dies wird verständlich, führt man sich die Vielzahl potentieller Kanzerogene vor Augen, mit welchen der Mensch bereits von seiner intrauterinen Entwicklung an in Berührung kommen kann, und betrachtet man die Komplexität einer solchen exogenen Induktion "spontaner" Geschwülste des menschlichen Nervensystems (z.B. Überwindung der Plazentarschranke, enzymatische Aktivierung bzw. Inaktivierung, Bildung aktiver Kanzerogene durch Synthese aus unwirksamen Vorstufen im Magen-Darm-Trakt und deren vielfältige Bedingungen, Reifegrad bzw. momentaner Zustand intrazellulärer Repairmechanismen, Beteiligung synkarzinogen-wirkender Cofaktoren, Beeinflussung durch Immunmechanismen etc.).

Wie schwierig der Nachweis einer möglichen Bedeutung tierexperimentell als kanzerogen erkannter Substanzen für die Tumorerzeugung im NS des Menschen sein kann, läßt sich am Beispiel der viel zitierten N-Nitrosoverbindungen demonstrieren. Die chemischen Vorstufen dieser Stoffgruppe (Nitrite, Nitrate; Amine, Amide) sind nahezu ubiquitär in der Umwelt vorhanden: im Wasser (J.SANDER,1973), in Nahrungsmitteln (in Fleisch und Fisch zur Konservierung, in Gemüse und Obst), im Tabakrauch und in Medikamenten (J.A.WOLFF u.A.E.WASSERMAN, 1972). Die Bildung potentiell kanzerogener Nitrosamine u. Nitrosamide aus diesen Vorstufen ist nicht

nur im Magen von Versuchstieren, sondern auch im menschlichen Gastrointestinaltrakt möglich (J.SANDER, 1971; G.OSSKE, 1972a). Gerade die weite Verbreitung dieser Substanzen in der natürlichen Umwelt erschwert aber den Nachweis ihrer spezifischen Relevanz für Geschwulstbildungen beim Menschen, da sie einerseits praktisch nicht eliminiert werden können und andererseits schon über einen sehr langen Zeitraum in etwa gleichbleibendem Ausmaße existieren, weshalb eine positive Korrelation zwischen ihrer Zunahme - etwa im industriellen Bereich - und einer erhöhten Tumorzidenz nicht eindeutig nachzuweisen ist.

Für chemische Resorptivkanzerogene ist zwar ein ursächlicher Zusammenhang mit Tumoren des menschlichen NS zu vermuten, gesicherte Erkenntnisse diesbezüglich existieren jedoch noch nicht; Hinweise auf mögliche Zusammenhänge sind bisher nur in Einzelfällen beobachtet worden und entbehren deshalb jeder statistisch verwertbaren Signifikanz: von T.F.MANCUSO (1963) wurde über eine erhöhte Inzidenz von Geschwülsten des NS bei Arbeitern der Kautschuk-Industrie im US-Bundesstaat Ohio berichtet und mit der Verwendung von M N H in diesem Industriezweig in Zusammenhang gebracht (G.STROOBANDT u.J.M.BRUCHER, 1968). - Eine Einzelmitteilung stammt von A.W. u.B.WEISS (1976), welche bei einem Munitionsarbeiter 34 Jahre nach intensiver L O S T -Exposition die Entwicklung eines Neurofibroms und Glioblastoms beobachteten. - Schließlich findet L.T.KURLAND (1971) bei den Einwohnern der Pazifikinsel Guam eine geringfügig erhöhte Rate neurogener Tumoren und führt dies auf die C y c a s i n-reiche Ernährung der Inselbewohner zurück. Cycasin ist eine dem Dimethylnitrosamin verwandte alkylierende Substanz, die in den dort zu Nahrungszwecken verarbeiteten Cycadenüssen enthalten ist. Die Substanz wirkt - ebenso wie Lost - auch neurotoxisch und steht möglicherweise mit der auf Guam gehäuft auftretenden amyotrophen Lateralsklerose in Zusammenhang. Seine neurotrop-onkogene Wirksamkeit im Tierversuch wurde von G.L.LAQUEUR u.M.SPATZ (1968) beschrieben.

) Neurogene Tumoren des frühen Kindesalters. - Zusammenhänge mit einer intrauterinen Kanzerogen-Exposition ?

Eine d i a p l a z e n t a r e Tumorerzeugung beim M e n - s c h e n konnte bisher nur für die gehäufte Entstehung eines sonst seltenen Vaginaltumors bei jungen Frauen nachgewiesen werden, deren Mütter während der Gravidität einer Behandlung mit S t i l b o e s t r o l unterzogen worden waren (A.L.HERBST et al., 1971). Außerdem ist aber bei einer Reihe von Tumoren des frühen Kindesalters eine intrauterine Erzeugung zu vermuten.

Hierzu zählen diejenigen Geschwülste, welche bereits innerhalb der ersten Lebenswochen zum Tode führen und solche, deren Häufigkeitsgipfel im Kleinkindesalter liegt (R.W.MILLER, 1973).

Unter den Tumoren des Kleinkindes (bis 5. Lebensjahr) stellen Neuroblastome und Hirntumoren nach den Leukämien die zweitgrößte Geschwulstgruppe dar: J.F.FRAUMENI jr. u. R.W.MILLER (1969) fanden bei 9 619 malignen Neoplasien dieser Altersgruppe 1 049 Neuroblastome (10,9%) und 1 035 Hirntumoren (10,8%) - 47,7% der bösartigen Neubildungen waren Leukämien.

Die im Tierexperiment nachgewiesene erhöhte Empfindlichkeit des fetalen Nervensystems gegenüber blastomogenen Substanzen kann helfen, Einblicke in die Pathogenese neurogener Tumoren des Kindes zu gewinnen (V.A.ALEXANDROV, 1976). Nach W.WECHSLER (1971) finden sich in der Neuropathologie Indizien dafür, "daß auch das menschliche NS während der Perinatalperiode eine besondere Empfindlichkeit gegenüber onkogenen Noxen aufweist". Das häufige Auftreten neurogener Geschwülste im Kindes- und Jugendalter entspräche somit den Ergebnissen der diaplazentaren Tumorerzeugung im Tierversuch. Der Gedanke liegt nahe, daß auch im NS des Menschen eine pränatale Geschwulstinduktion erfolgen kann - möglicherweise infolge einer erhöhten Aufnahme kanzerogener Substanzen durch die Mutter (D.SCHMÄHL, 1973). Diese Hypothese wird auch durch folgende Beobachtung gestützt: Bei der diaplazentaren Tumorinduktion im Tierexperiment stellen die Ependymome des Großhirns mit einer Inzidenz von etwa 15% eine relativ große Gruppe dar, während sie nach Kanzerogen-Exposition erwachsener Ratten nur selten auftreten. Dies entspricht den aus der menschlichen Neuroonkologie bekannten Verhältnissen, wo die Großhirn-Ependymome ebenfalls im Kindesalter ihren Häufigkeitsgipfel haben, während sie beim Erwachsenen nur selten anzutreffen sind (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; J.M.RICE, 1973).

3) Neurogene Tumoren des höheren Lebensalter. - Pränatale Induktion mit großer Entwicklungs-Latenz ?

Einige der mit diaplazentarer Tumorinduktion befaßten Autoren interpretieren ihre Versuchsergebnisse dahingehend, daß auch die neurogenen Geschwülste des Erwachsenen und des alten Menschen bereits in utero angelegt sein können (J.M.RICE, 1973; D. SCHMÄHL, 1973; P.L.LANTOS u.D.J.COX, 1976). Sie beziehen sich dabei auf die im Tierversuch beobachtete lange Entwicklungs- L a -

t e n z mancher NS-Tumoren, welche v.a. von der Dosis des verabreichten Kanzerogens abhängig ist (J.A.SWENBERG et al., 1972a).^{*)} So konnten S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY (1968) neurogene Malignome bei Ratten beobachten, welche sich nach diaplazentarer Applikation kleinster ÄNH-Dosen erst im Alter von ca. 2 Jahren entwickelten, was auf menschliche Verhältnisse übertragen dem höheren Erwachsenenalter entspricht.

4) Bedeutung von Präventivmaßnahmen:

Alle bisher aufgeführten Erkenntnisse von der Pathogenese neurogener Tumoren im allgemeinen und der diaplazentaren Geschwulsterzeugung im besonderen gewinnen ihre Bedeutung erst aus der Tatsache, daß sie evtl. zu einer V e r h ü t u n g des Geschwulstwachstums beitragen können.

Die auf dem Gebiet der chemischen Resorptivkanzerogenese gewonnenen Erkenntnisse geben Anlaß zur Hoffnung, daß hier zumindest in Teilbereichen Möglichkeiten zu einer gezielten E x p o s i t i o n s p r o p h y l a x e genutzt werden können: z.B. Reduktion oder Verzicht auf kanzerogene Nitrosoverbindungen bzw. deren Vorstufen in N a h r u n g s - u. G e n u ß m i t t e l n und im T r i n k w a s s e r, Vorsicht im Umgang mit diesen oder ähnlich wirkenden Substanzen in der i n d u s t r i e l l e n P r o d u k t i o n und beim Gebrauch von A r z n e i m i t t e l n (V.A.ALEXANDROV u.W.JÄNISCH, 1971; G.OSSKE et al., 1972; J.A.WOLFF u.A.E.WASSERMAN, 1972; J.SANDER, 1973).

Insbesondere zeigen die Ergebnisse der transplazentaren Tumorerzeugung, daß Frauen im gebärfähigen Alter des besonderen Schutzes vor kanzerogenen Noxen bedürfen, v.a. auch im Hinblick auf die außerordentlich hohe Empfindlichkeit des N e r v e n s y s t e m s während der pränatalen Entwicklung.

" D e r S c h u t z k o m m e n d e r G e n e r a t i o n e n
i s t w o h l d i e v o r n e h m s t e A u f g a b e
d e r p r ä v e n t i v e n M e d i z i n " (S.IVANKOVIC u.
H.DRUCKREY, 1968).

^{*)} siehe S.33.

D/ Autoradiographie:

Im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit wird versucht, mit Hilfe autoradiographischer Methoden das Proliferationsverhalten von Frühstadien ANH-induzierter neurogener Tumoren näher zu bestimmen. Im folgenden soll deshalb kurz auf die G r u n d - l a g e n der Autoradiographie und ihre A n w e n d u n g in der experimentellen Neuroonkologie eingegangen werden.

I Grundlagen: [Ⓢ])

Mittels autoradiographischer Methoden läßt sich die U m s a t z - r a t e von Stoffen in Geweben, Zellen und in subzellulären Strukturen bestimmen. Man macht sich dabei den ständigen Ab- und Wiederaufbau - also den Stoffumsatz - der einzelnen Bauelemente einer Zelle zunutze und schleust diese nach radioaktiver Markierung in den Zellstoffwechsel ein, wo der Einbau entsprechend den molekular-strukturellen Eigenschaften dieser Bausteine erfolgt.

In besonderer Weise hierfür geeignet erweist sich der Umsatz von Zellkern-gebundenen N u k l e i n s ä u r e n, der zum einen allen teilungsaktiven Zellen gemeinsam ist und sie somit dieser Methode zugänglich macht und der zum anderen direkte Aussagen über das Wachstumsverhalten und die Proliferationskinetik eines Zellverbandes (z.B. von Tumorgewebe) zuläßt. - Radioaktiv markierte DNS-Bausteine, v.a. ^3H - T h y m i d i n, werden dem zu untersuchenden biologischen System (Versuchstier, Zellkultur) auf enteralem oder parenteralem Wege zugeführt, worauf der Replikations- und damit Mitose-abhängige Einbau in die nukleäre DNS erfolgt. Die Verwendung von ^3H (Tritium)- markiertem Thymidin bietet mehrere Vorteile:

1. Thymidin findet sich als Baustein nur in der D N S des Zellkerns, nicht aber in Ribonukleinsäuren; die feingewebliche Lokalisation dieser Markersubstanz kennzeichnet also ausschließlich Orte der DNS-Synthese und damit in Teilung begriffene Zellen (H.A.JOHNSON et al., 1960).
2. Tritium steht hinsichtlich seines A u f l ö s u n g s v e r - m ö g e n s weitaus an der Spitze aller biologisch interessanten Radio-Isotope. Auf Grund der extrem niedrigen Energie dieses Beta-Strahlers ist sein Auflösungsvermögen wesentlich größer als dasjenige vergleichbarer, biologisch

[Ⓢ])nach W.MAURER: Grundlagen und Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen. - F.Autoradiographie/ in: Handbuch der Neurochirurgie Bd.I. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg; 1959

geeigneter Isotopen (wie ^{14}C , ^{35}S), d.h. zwei zueinander benachbart liegende Strahlungsquellen werden auch bei sehr geringem gegenseitigem Abstand noch als getrennt erkannt ($s \leq 1 \mu$).

3. Die l a n g e H a l b w e r t s z e i t des Tritiums (12,3 Jahre) ermöglicht die Durchführung auch langfristiger Untersuchungen.

Methodisches Vorgehen:

Die radioaktiv markierte Substanz wird in der obengenannten Weise dem zu untersuchenden Gewebe zugeführt. Einige Zeit danach werden histologische Schnitte angefertigt und auf Objektträger aufgezogen. Anschließend wird der Schnitt mit einer Zwischenschicht aus Colloidin oder Gelatine ($d = 1 \mu$) und dann mit einer photographischen Emulsion bedeckt.

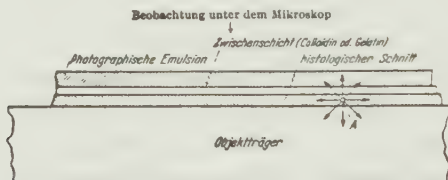


Abb.5: Prinzip des autoradiographischen Verfahrens.
(nach W.Maurer;1959)

Von der z.B. in Punkt A (Abb.5) eingebauten radioaktiven Substanz gehen nach allen Richtungen Beta-Teilchen aus und durchsetzen u.a. auch die benachbarten Stellen der Emulsion. Nach Belichtungszeiten von Tagen, Wochen oder Monaten wird die photographische Emulsion entwickelt. Die Schwärzungsverteilung (Silberkörner) in der Emulsion gibt dann die lokale Verteilung der Radioaktivität im histologischen Schnitt wieder. Nach der photographischen Entwicklung kann der Schnitt durch die Emulsion hindurch in der üblichen Weise gefärbt werden. Dabei bleiben Schnitt und Emulsion dauernd in festem Kontakt.

Auswertung:

Die nach Gabe von ^3H -Thymidin erzielte Silberkornverteilung kennzeichnet diejenigen Zellen, welche sich zum Zeitpunkt der Appli-

kation in der DNS-Synthesephase befinden, sich also auf die Mitose vorbereiten (G.KURY u.H.W.CARTER, 1965). Das Verhältnis von markierten Zellen innerhalb der Population zur Gesamtheit aller Zellen wird als Markierungsindex J_M bezeichnet.

$$J_M = \frac{\text{Zahl d. mark. Zellen}}{\text{Gesamtzahl d. Zellen}}$$

Dieser Index kann als ein Maß für die Teilungsaktivität des untersuchten Gewebes gelten. Er ist ein Parameter, welcher besonders bei der Beurteilung des Proliferationsverhaltens von Tumoren eine wesentliche Rolle spielt. Dabei muß allerdings zweierlei berücksichtigt werden:

1. Der Markierungsindex gibt zunächst nur einen allgemeinen Hinweis auf die Mitoseaktivität des Gewebes, da er nur die zum Zeitpunkt der Markierung in der S-Phase (DNS-Synthese) befindlichen Zellen erfaßt, nicht aber quantitativ alle teilungsfähigen Zellen repräsentiert (C.B.WILSON et al., 1972).
2. In Tumoren spielen auch amitotische Kern- und Zellteilungen eine Rolle, so daß die tatsächliche Proliferationstendenz in der Autoradiographie möglicherweise nicht zur Darstellung kommt (P.CITOLER u.C.THOMAS, 1968: Diskussion S. 383).

II Anwendung autoradiographischer Methoden in der experimentellen Neuroonkologie:

Autoradiographische Methoden finden in der experimentellen Neuroanatomie und Neurobiochemie Anwendung: J.ALTMAN und G.D.DAS führten bei Ratten Untersuchungen zur postnatalen Neurogenese bestimmter Hirnregionen durch (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1965 u. 1966; J.ALTMAN, 1966b); außerdem studierten sie das Proliferationsverhalten von Gliazellen in der postnatalen Phase, u.a. auch bei Ratten, die einer erhöhten Belastung durch Lernaufgaben unterworfen wurden (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1964; J.ALTMAN, 1966a). Daneben wurden auch Bestimmungen des Eiweiß-Stoffwechsels in Ganglienzellen und im Plexus chorioideus durchgeführt (W.MAURER, 1959).

Auch in die experimentelle Neuroonkologie haben die autoradiographischen Untersuchungsmethoden Eingang gefunden:

- zur Bestimmung des Proliferationsverhaltens und der Wachstumskinetik künstlich erzeugter Tumoren im allgemeinen (P.CITOLER u.C.THOMAS, 1968; P.KLEIHUES et al., 1968) und von Fr ü h s t a d i e n experimenteller Gliome im besonderen (E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972; K.TAOMOTO, 1977).
- Untersuchungen zu Stoffumsatz und Proliferationskinetik der Zellen im s u b e p e n d y m a l e n M a t r i x g e - w e b e (I.SMART, 1961; P.D.LEWIS, 1968) - auch im Hinblick auf dessen mögliche Bedeutung für die Entstehung von Gehirntumoren beim Menschen (J.H.GLOBUS u.H.KUHLNBECK, 1944)
- Bestimmungen der Mitoserate und Proliferationsdynamik eines Glioblastoma multiforme (H.A.JOHNSON et al., 1960) und verschiedener anderer Tumoren des Nervensystems beim M e n - s c h e n (G.KURY u.H.W.CARTER, 1965).

2. TEIL: EIGENE VERSUCHE

A/ Problemstellung:

Im einleitenden Teil über die Grundlagen der experimentellen Neuroonkologie wurden verschiedene Methoden einer selektiv-neurotrophen Tumorerzeugung beschrieben, unter denen sich die diaplazentare Applikation von Äthylnitrosoharnstoff durch eine hohe Induktionsrate bei relativ niedriger Toxizität und durch geringen methodischen Aufwand auszeichnet (s.S. 36 ff.). Damit wird ein Tumormodell verfügbar, welches sich beliebig oft und ausreichend sicher reproduzieren läßt und zu verschiedensten geschwulstbiologischen sowie experimentell-therapeutischen Untersuchungen eingesetzt werden kann.

Von wesentlicher Bedeutung für das Verständnis der Tumorentwicklung ist die Suche nach Frühstadien neoplastischen Wachstums, weil sich hier Entstehungsort und Matrixgewebe sowie die Morphogenese in ihrem zeitlichen Entwicklungsablauf exakter verfolgen lassen. Für die Diskussion der formalen Pathogenese neurogener Tumoren scheint diesem Vorgehen besonderes Gewicht zuzukommen, da von vielen Geschwulstforschern die Sonderstellung der Hirntumorentwicklung - gerade auch in ihrer Initialphase - betont wird (siehe Übersicht bei K.J.ZÜLCH u.W.WECHSLER, 1968).

Lange Zeit richtete die experimentelle Neuroonkologie ihr Hauptaugenmerk auf die Untersuchung makroskopisch entwickelter Tumoren; Frühstadien und Mikrotumoren wurden dabei eher als Zusatzbefunde beschrieben. Erst in den letzten Jahren haben sich einige Autoren gezielt mit dem ersten zeitlichen Auftreten und der Art frühester neoplastischer Veränderungen in den Gehirnen Kanzerogen-exponierter Versuchstiere befaßt. Übereinstimmend konnten die Arbeitsgruppen von LANTOS u.Mitarb. (P.L.LANTOS u.D.J.COX, 1976; P.L.LANTOS u.G.J.PILKINGTON, 1979; G.J.PILKINGTON u.P.L.LANTOS, 1979), D.SCHIFFER u.Mitarb. (1978) sowie K.TAOMOTO (1976) blastomátöse Frühstadien bereits von der 8. Woche nach der Geburt an beobachten - jeweils bei intrauterin ÄNH-exponierten Ratten. Diese Untersuchungen beschränken sich allerdings auf die Anfangsphase der Tumorentwicklung und lassen das weitere Wachstum dieser Frühstadien unberücksichtigt.

Ziel der vorliegenden Arbeit soll es sein, in einer zeitlichen Längsschnitt-Beobachtung das Wachstum experimenteller Hirntumoren bei Ratten zu beschreiben. Die Tiere werden - nach diaplazentarer ÄNH-Exposition - in unterschiedlichem Alter getötet,

ihre Gehirne werden in mikroskopischen S t u f e n s c h n i t t e n auf blastomatöse Proliferationen hin untersucht. Dabei wird insbesondere der Frage nachgegangen, ob die in der Perinatalperiode induzierten Tumoren mit zunehmendem Alter der Tiere alle ein gleichartiges Wachstumsverhalten erkennen lassen und ob auch in höherem Alter noch Frühformen neoplastischen Wachstums nachweisbar sind. Es wird in diesem Zusammenhang auch die Frage zu diskutieren sein, ob mögliche Parallelen zu Ursache und Entwicklung m e n s c h l i c h e r Hirntumoren im Kindes- u. Erwachsenenalter gezogen werden können.

Durch eine a u t o r a d i o g r a p h i s c h e Markierung der in Teilung befindlichen Tumorzellen soll deren Proliferationsverhalten näher analysiert werden, darüber hinaus wird damit auch nach evtl. Hinweisen auf Ursprung und Morphogenese der Tumoren gesucht. Hierzu soll auch eine Bestimmung der Proliferationsaktivität in der subependymalen Matrixzone und in benachbarten Strukturen nähere Aufschlüsse geben.

Weitere Fragestellungen beziehen sich auf Inzidenz, Lokalisation, Histologie und Stadieneinteilung der Tumoren, wozu wir uns das höhere Auflösungsvermögen mikroskopischer S t u f e n s c h n i t t e zunutze machen.

B/ Versuchseinteilung:

Der experimentelle Teil der Arbeit setzt sich aus 3 Abschnitten zusammen:

I D i a p l a z e n t a r e T u m o r e r z e u g u n g

II L i c h t m i k r o s k o p i s c h e U n t e r -
s u c h u n g e n

- Blastomatöse Prolifereate in Gehirn-Stufenschnitten:
Inzidenz, Stadieneinteilung, Lokalisation,
Histologie
- Neurogene Tumoren außerhalb des Gehirns, Geschwülste
in extraneuralen Organen

III A u t o r a d i o g r a p h i s c h e U n t e r -
s u c h u n g e n

- Proliferationsverhalten der zerebralen Neoplasien
- Zellteilungsaktivität in bestimmten Hirnregionen:
subependymale Matrixzone, Tumor-Umgebung,
subkortikales Marklager der Hippocampus-
formation

C/ Material und Methodik:

I. Versuchstiere:

Für die diaplazentare Tumorerzeugung wurden 4 weibliche Tiere des BDII-Rattenstammes [⊕]) verwendet. Es handelt sich hierbei um eine Bruder-Schwester-Inzucht von Albino-Ratten des Wistar-Stammes (H. DRUCKREY et al., 1962), deren besondere Eignung für die experimentelle neurotrope Kanzerogenese vielfach bestätigt werden konnte (H. DRUCKREY et al., 1970a).

Die vier geschlechtsreifen Tiere erhielten die Versuchstier-Nummern: 3010, 3014, 3016, 3020. Ihr Gewicht betrug (entsprechend der vorstehenden Reihenfolge): 247 g, 226 g, 236 g u. 235 g.

Sobald der weibliche Östrus, der sich alle 6-8 Tage wiederholt und etwa 14 Std. andauert (S. JUNG, 1962), an einer Weiterstellung der Vagina zu erkennen war, wurden die Tiere für jeweils einige Stunden mit je einem Bock zusammengebracht. Trotz wiederholter Paarungsversuche dieser Art, bei denen in den meisten Fällen auch mehrere Deckakte zu beobachten waren, erwies sich diese Methode als nicht erfolgreich. Zu einer Befruchtung kam es bei den 4 Weibchen schließlich erst dann, als sie für 3 Tage ununterbrochen mit Böcken zusammengesetzt worden waren. Hierdurch war jedoch eine genaue Feststellung des Konzeptions-termines unmöglich geworden, weshalb die spätere ÄNH-Applikation nicht mit der angestrebten zeitlichen Genauigkeit stattfinden konnte. Am 15. Tag nach Trennung der Weibchen von den Böcken erfolgte die ÄNH-Injektion (s.u.), was einer theoretischen Tragzeit von 15, 16 bzw. 17 Tagen bis dahin entsprach. Unter Annahme einer mittleren Trächtigkeitsdauer der BD-Ratten von 22 Tagen 10 ± 4 h (H. DRUCKREY, 1973) war später ein Errechnen des tatsächlichen Konzeptionstermins und damit auch des Applikationszeitpunktes in Bezug zum Stadium der Gravidität möglich (s.u.)

II Äthylnitrosoharnstoff-Applikation (am 16.12.75):

Der zur Tumorinduktion verwendete Äthylnitrosoharnstoff (ÄNH) wurde im Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg synthetisiert. ^{⊕⊕}) Durch Auflösung von 250 mg ÄNH in 20 ml 0,9%-iger Kochsalzlösung, unter pH-Einstellung mit Phosphatpuffer auf einen Wert von etwa pH 5 und bei Raumtemperatur von 22° C, wurde eine 1,25%-ige ÄNH/Kochsalz-Lösung hergestellt. Dies entspricht der von S. IVANKOVIC u. H. DRUCKREY (1968) angegebenen maximalen Lösungsmöglichkeit des ÄNH unter den genannten Bedingungen. Unmittelbar im Anschluß hieran wurde die gelöste Substanz den vier trächtigen Ratten (Versuchstier-Nr. 3010, 3014, 3016, 3020) in einer Dosis von

25 mg/kg Körpergewicht intravenös

injiziert. Die i.v.-Applikation erfolgte in eine durch Hyperämisierung (Warm-

[⊕]) Zuchttiere dieses Rattenstammes waren von Prof. Dr. H. Druckrey, Freiburg,
^{⊕⊕}) zur Verfügung gestellt worden, dem an dieser Stelle besonders gedankt sei.
Für die Herstellung danken wir Herrn Dr. Baudisch.

wasser) erweiterte Schwanzvene.

Anhand der obengenannten Berechnung des Konzeptionszeitpunktes ergaben sich für die einzelnen Tiere folgende Injektionstermine:

Nr. 3010		15.Tag post conceptionem (p.c.)		
" 3014		17. " "	"	"
" 3016		17. " "	"	"
" 3020		16. " "	"	"

III Beobachtung der Tumorentwicklung; Tumorpräparation:

21.12.75: W e i b c h e n N r. 3 0 1 4 wirft 10 Junge (5 männliche, 5 weibliche Tiere). Kurz nach der Geburt verstirbt ein männliches Neugeborenes; der Grund für den Exitus ist nicht erkennbar, äußerlich sichtbare Verletzungen oder eine Mißbildung lassen sich nicht feststellen. Die übrigen Tiere werden vom Muttertier sofort angenommen.

W e i b c h e n N r. 3 0 1 6 wirft am selben Tag 10 Junge (4 männl., 6 weibliche Tiere). Alle Neugeborenen werden vom Muttertier sofort angenommen.

22.12.75: W e i b c h e n N r. 3 0 2 0 wirft 5 Jungtiere. Während des Geburtsvorganges kommt es zu einem starken Blutverlust, woran das Muttertier noch am selben Tag verstirbt. Die neugeborenen Tiere müssen wenig später tot entfernt werden.

23.12.75: W e i b c h e n N r. 3 0 1 0 wirft 11 Junge (8 männl., 3 weibliche Tiere). Auch hier werden sämtliche Neugeborenen sofort vom Muttertier angenommen.

Alle 30 Überlebenden Jungtiere wurden im Alter von 4 Wochen von den Müttern entwöhnt und nach Geschlechtern getrennt in Einzelkäfige gesetzt. Als Futter wurden Herilan^R/MRH-Alleinfutter und Wasser ad libitum verwendet.

Bis zum Zeitpunkt ihrer Tötung wurden die Jungtiere in regelmäßigen Abständen von 2 bis 3 Tagen einer sorgfältigen Kontrolle unterzogen, zur frühzeitigen Erkennung einer eventuellen Erkrankung bzw. zum Nachweis einer sich anbahnenden neurologischen Tumorsymptomatologie.

Bezüglich des Tötungszeitpunktes gestaltete sich der weitere Ablauf folgendermaßen: Für die autoradiographischen Untersuchungen wurden je 4 Tiere (plus 1 Kontrolltier) im Alter von 15 Wochen (6.4.76: Nrn.1001-1004;1005) bzw. von 39 Wochen (20.9.76: Nrn.1012-1015; 1016) getötet, ohne daß bis dahin Zeichen einer Tumorentwicklung aufgetreten waren. Die übrigen 22 Tiere wurden erst nach Manifestation neurologischer Symptome getötet, wobei in allen Fällen Tumoren der Hirnnerven bzw. des PNS sowie RM-Geschwülste verlaufsbestimmend wirkten.

War es zu einer Tumormanifestation gekommen, so wurden die Tiere meist erst bei voller Symptomausbildung getötet, in der Regel kurz vor dem zu erwartenden Exitus letalis. Je nach Geschwulstlokalisation konnten verschiedene zeitliche Verläufe bis zum Erreichen dieses Stadiums beobachtet werden: PNS- und RM-Tumoren führten über eine relativ lange Zeitspanne hinweg in die finale Phase, bei den intrakraniellen Geschwülsten des N.trigeminus kam es erst spät - über die Hirndruck-Symptomatik - zu einer Verschlechterung, welche dann aber meist sehr foudroyant in das Letalstadium einmündete.

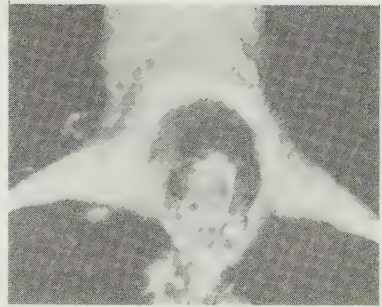
Bei der in allen Fällen durchgeführten Freilegung und Präparation des Gehirns wurde folgendermaßen vorgegangen:

1. Narkose durch intraperitoneale Injektion einer 1,7%-igen Nembu-tal^R-Lösung in einer Dosierung von 0,3 ml/100 g Körpergewicht;
2. i.v.-Injektion von 1 ml Vetren^R (100 IE Heparin) in die Schwanzvene, zur globalen Gerinnungshemmung und damit Erleichterung von
3. Ausbluten des Tieres: Laparotomie durch medianen Längsschnitt zwischen Xiphoid und Genitalregion, nach beiden Seiten zum Oberschenkelansatz hin verlängert; Darstellung der V. cava inf. durch Mobilisieren der intestinalen Eingeweide; Einführen einer feinen Kanüle in die Hohlvene kaudal der Leber und Aspiration von 8-12 ml Blut (je nach Körpergewicht und Allgemeinzustand) bis zur Asystolie; die dadurch erzielte weitgehende Blutleere erleichterte die weitere Präparation wesentlich.
4. Darstellung und Präparation des Gehirns: Freilegung des occipitalen Schädelpols und Darstellung der Membrana atlanto-occipitalis; stückweises osteoklastisches Entfernen der Schädelkalotte mittels Luer über der Kleinhirn- und Großhirnkonvexität von occipital nach frontal. Nach vollständiger Freilegung des Gehirns wurde das RM kaudal des Kleinhirnwurms scharf abgesetzt, Gehirn samt Hirnstamm wurden angehoben und nach schrittweiser Durchtrennung sämtlicher Hirnnerven an der Schädelbasis dem Neurocranium entnommen (Abb. 6a₁ - d₁).
5. Fixation des Präparates in 5%-iger Formalin-Lösung.

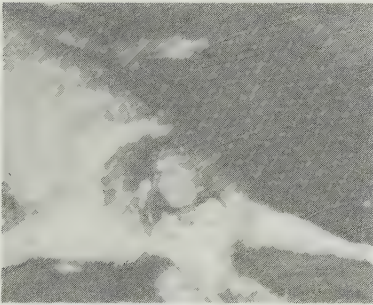
Abb. 6



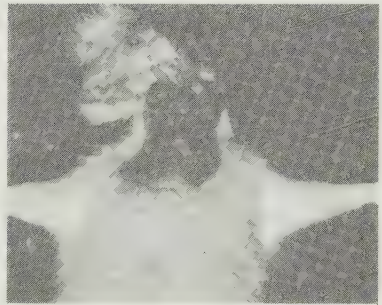
a,



b,



c,



d,

Neben der bei jedem Tier durchgeführten Gehirn-Präparation wurden auch jeweils die makroskopisch entwickelten Tumoren des übrigen Nervensystems präpariert und in Formalin fixiert. Daneben erfolgten in gleicher Weise auch Präparation und Fixierung der in wenigen Fällen entstandenen extraneuralen Geschwülste.

Ablauf und Ergebnis der histologischen Materialgewinnung konnten dadurch verbessert werden, daß bereits während der schrittweisen Freilegung der Präparationsobjekte diese ständig mit Formalinlösung gespült wurden.

Tab. 3 zeigt eine Zusammenstellung aller in die experimentellen Untersuchungen aufgenommenen Versuchstiere. Der Vollständigkeit halber sind im Anhang zu Tab.3 noch diejenigen Tumoren aufgeführt, welche sich bei Tieren ohne ANH-Exposition (Nr.3013, 3017, 3024), also spontan entwickelt hatten bzw. bei einem der Muttertiere (Nr.3010) beobachtet wurden.

Tab.3 Zusammenstellung der in die experimentellen Untersuchungen aufgenommenen Versuchstiere.

Versuchstier (Nr.) Geschlecht	Muttertier (Nr.)	XNH-Exposition (...Tag p.c.)	Geburtsdatum	Zeitpunkt der Tötung Alter (...Wochen)	Autoradiograph. Untersuchung(+/-)	Präparation des Gehirns (+/-)	Präparation enderweitig lokalisierter Tumoren
1001	männlich	3010	15.	23.12.75	6.4.76 / 15	+	-
1002	"	"	"	"	/ "	+	-
1003	"	"	"	"	/ "	+	-
1004	"	"	"	"	/ "	+	-
1005	"	entfällt	entfällt(Kon- trolltier)	"	/ entf.	+	entfällt
1006	weiblich	3016	17.	21.12.75	24.7.76 / 31	-	RM
1007	männlich	"	"	"	/ "	+	PNS
1008	"	3014	"	"	31.7.76 / 32	-	N.Trigeminus
1009	"	3010	15.	23.12.75	" / "	+	RM
1010	weiblich	"	"	"	21.8.76 / 35	-	RM
1011	männlich	3016	17.	21.12.75	11.9.76 / 38	-	N.Trig., Fascioptio
1012	"	3010	15.	23.12.75	20.9.76 / 39	+	-
1013	"	"	"	"	/ "	+	-
1014	"	"	"	"	/ "	+	-
1015	"	3016	17.	21.12.75	" / "	+	-
1016	"	entfällt	entfällt(Kon- trolltier)	"	/ entf.	+	entfällt
1017	"	3014	17.	21.12.75	9.10.76 / 42	-	PNS
1018	"	"	"	"	/ "	+	N.Trig.,Meningen
1019	weiblich	"	"	"	9.11.76 / 46	-	RM
1020	männlich	3016	"	"	26.11.76 / 49	+	N.Trigeminus
1021	weiblich	"	"	"	22.1.77 / 57	-	RM
1022	"	"	"	"	/ "	-	Mamma
1023	"	3010	15.	23.12.75	8.2.77 / 59	-	RM
1024	männlich	3014	17.	21.12.75	14.3.77 / 64	+	Meningen, intrathor. Tumor
1025	weiblich	3016	"	"	16.7.77 / 82	+	-
1026	"	3014	"	"	/ "	+	-
1027	"	3016	"	"	12.10.77 / 94	+	subkutane Tumoren
1028	"	"	"	"	/ "	+	subkutaner Tumor
1029	männlich	entfällt	entfällt(Kon- trolltier)	"	/ entf.	-	entfällt
1030	weiblich	3010	15.	23.12.75	19.11.77 / 100	-	-
1031	"	3014	17.	21.12.75	17.12.77 / 104	-	-

Anhang zu Tab.3: Tumoren bei nicht intrauterin XNH-exponierten Ratten.

Versuchstier-Nr., Geschlecht	XNH-Exposition (+/-)	Tumorklassifikation
3010 weiblich	+ / Muttertier	subkutaner Tu. der Mammaregion
3013 "	-	" "
3017 "	-	" "
3024 männlich	-	retroperitonealer Tu.

IV. Anfertigung der histologischen Präparate 5). - Lichtmikroskopische

Auswertung:

Die Gehirne aller Tiere wurden nach der Präparation zunächst für 3-4 Tage in 5%-iger Formalinlösung fixiert und dann in Paraffin eingebettet. Ebenso wurden alle makroskopisch-entwickelten Tumoren des übrigen Nervensystems (ausgehend von Hirnnerven, PNS u. RM) und die extraneuralen Geschwulstbildungen fixiert und für eine lichtmikroskopische Auswertung vorbereitet (s.Tab. 3).

Die in Paraffin eingebetteten Gehirne wurden dann mit dem Mikrotom in S t u f e n s c h n i t t e von 3 µm Schichtdicke zerlegt. Die so gewonnenen Schnittpräparate wurden in vorbestimmten Abständen zueinander asserviert und auf Objektträger aufgezogen, die übrigen Zwischenschnitte verworfen. Es wurden Horizontal- und Frontalschnitte angelegt, die gewählten Abstände der Einzelschnitte zueinander betrugen 60 bzw. 120 µm, bei Kontrollpräparaten 240 bzw. 600 µm. Im einzelnen ergab sich dabei folgendes Vorgehen:

Hirnrn. Det. - r.:	Abstand der Einzelschnitte in den Objekttr.	Schnitt
1001-1004 (Autoradiographie)	60 µm	Horizontal
1012-1015 " "	120 µm	Frontalschnitt
1006-1011 u. 1018-1031	120 µm	" "
1005 (kontrolle für autoradiog- raphie)	240 µm	Horizontal
1016 " " "	600 µm	Frontalschnitt
1017	60 µm	" "

Hierauf erfolgte das E i n f ä r b e n der Präparate: Dazu wurden die zunächst für 24 Stunden im Wärmeofen getrockneten und von überständigem Paraffin befreiten Präparateträger über Xylol und die absteigende Alkoholreihe in die hydrophile Phase gebracht und mit 0,1%-igem K r e - s y l v i o l e t t (Nissl-Färbung) eingefärbt.

Anschließend wurde der überschüssige Farbstoff mit einer Alkohol/Eisessig-Lösung ausgespült, die Objektträger wurden nach Durchlaufen der aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol-Phase mit Eukitt bestrichen und mit einem Deckglas versehen.

Herrn Prof.Dr.H. S c h m i d t und Frau E. B u m l l e r, Neuropathologische Abteilung im Institut für Pathologie der Univ.Erlangen-Nbg.(Direktor: Prof.Dr. V.Becker), gilt der besondere Dank für die großzügige Unterstützung sowie hilfreiche Anleitung bei der Herstellung u.Beurteilung der mikroskopischen Präparate.

Alle Präparate wurden unter dem L i c h t m i k r o s k o p zunächst in der Lupenvergrößerung (20-fach) auf das Vorhandensein neoplastischer Veränderungen hin durchgemustert, diese wiederum wurden dann mit stärkeren Vergrößerungen (50- bis 600-fach) weiter nach Größe und Histologie differenziert.

Insgesamt wurden auf diese Weise 4102 Hirnschnitte untersucht.

V Autoradiographische Untersuchungen [⊕]):

Die vorliegende Arbeit befaßt sich in einer ihrer Fragestellungen mit dem Proliferationsverhalten früher Entwicklungsstadien experimenteller Hirngeschwülste. Mit Hilfe autoradiographischer Methoden soll versucht werden, durch Markierung der in Mitose befindlichen Zellen eine quantitative Aussage über die Teilungsaktivität dieser blastomatösen Proliferate zu treffen (über die theoretischen Grundlagen siehe S. 73 ff.).

Für diese Versuchsreihe wurden insgesamt 8 der diaplazentar ÄNH-exponierten Ratten verwendet (außerdem dienten 2 nicht-exponierte Tiere als Kontrolle). Sie wurden in unterschiedlichem Alter getötet: 4 Ratten nach 15 Wochen (+ 1 Kontrolltier), die anderen 4 Ratten nach 39 Wochen (+ 1 Kontrolltier). 1 Stunde vor dem Töten erfolgte die intravenöse Injektion von 500 µCi ³H - T h y m i d i n in eine Schwanzvene; der Tod wurde herbeigeführt durch Entbluten aus der unteren Hohlvene in Nembutal^R-Narkose. Präparation und Fixierung der Gehirne erfolgten im Übrigen wie oben angegeben (s.S. 82 ff.).

Nach Paraffin-Einbettung wurden die Gehirne in Stufenschnitte zerlegt, wobei jeweils 2 benachbarte Schnittpräparate asserviert und auf getrennte Objektträger aufgezogen wurden: Das eine Präparat wurde in der oben dargestellten Weise für lichtmikroskopische Untersuchungen weiterbearbeitet, das andere wurde mit einer photoaktiven Emulsion (Kodak Stripping Plates AR 10) bedeckt, 2 Wochen in der Dunkelkammer exponiert und nach der Entwicklung (Kodak D-19 Developer Powder u. UNIFIX Powder) durch die Photoemulsion hindurch mit Kresylviolett in der üblichen Form gefärbt.

Zur Bestimmung der Teilungsaktivität wurden die Silberkorn-markierten Zellen innerhalb eines blastomatösen Feldes bei 1200-facher Vergrößerung ausgezählt und mit der Gesamtzahl der Zellen innerhalb des interessierenden Areals in Beziehung gesetzt. Der so erhaltene Markierungsindex

$$I_M = \frac{\text{Zahl d. mark. Zellen}}{\text{Gesamtzahl d. Zellen}}$$

wurde als Maß für das Proliferationsverhalten herangezogen.

[⊕]) Herrn Dr. med. H. R o s e n b e r g e r und Frau G. R i t t e r , Dermatologische Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. O. Hornstein) sei für ihren fachkundigen Rat und die großzügige Unterstützung bei der Herstellung der autoradiographischen Präparate besonders gedankt.

D/ Ergebnisse:

I Tumorentwicklung nach diaplazentarer ÄNH-Exposition:

Im folgenden soll zunächst in chronologischer Reihenfolge für jede der 30 intrauterin ÄNH-exponierten Ratten der Versuchsverlauf dargestellt werden. Dies geschieht jeweils in Form einer kurzen Epikrise, welche das Auftreten etwaiger Tumorsymptome und andere, hinsichtlich des Verlaufs wichtige Beobachtungen wiedergibt. Außerdem erfolgt eine kurze Schilderung des Sektionsbefundes. Dabei ist hinsichtlich der Versuchsplanung zu beachten, daß je 4 Tiere nach Ablauf von 15 bzw. 39 Wochen getötet wurden (für die autoradiographischen Untersuchungen), ohne daß sie eine faßbare Symptomatologie entwickelt hatten. Die übrigen Ratten hingegen wurden erst dann getötet, als sich schon fortgeschrittene neurologische Tumorzeichen manifestiert hatten. Diese Geschwülste gingen ausnahmslos von den Hirnnerven, dem PNS, dem Rückenmark bzw. von den Meningen aus; in keinem einzigen Fall konnte ein zerebraler Tumor als verlaufsbestimmend beobachtet werden.

Bei einigen Tieren führte eine Erkrankung anderer Art zum Tode.

Versuchstiere Nrn.1001 - 1004: 4 Söhne von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition am 15. Tag post coitum (p.c.), geworfen am 23.12.75 - Alter: 105 Tage.

Diese Tiere wurden für den Autoradiographieversuch ausgewählt und am 6.4.76 nach Injektion von ^3H -Thymidin durch Ausbluten in Nembutal^R-Narkose getötet. Die makroskopisch unauffälligen Gehirne wurden freipräpariert, fixiert und einer autoradiographischen bzw. lichtmikroskopischen Auswertung zugeführt. Keines der Tiere hatte bis dahin Symptome einer Tumorentwicklung erkennen lassen, auch der Sektionsbefund war diesbezüglich unauffällig.

Bei Nr.1004 fand sich eine harngefüllte Zyste im Subkutangewebe des Unterbauchs, welche im Alter von 11 Wochen erstmalig beobachtet worden war (Abb.7). Die weitere Präparation zeigte, daß ein bindegewebiger Strang zwischen dieser Zyste und der Harnblase bestand, woraus möglicherweise auf das Vorliegen eines Urachus persistens als Ausdruck einer ÄNH-bedingten Hemmungs-
mißbildung zu schließen war. Auffallend ist, daß bei einem Bruder dieses Tieres die gleiche Fehlbildung gefunden wurde (Nr.1014). In einem späteren Kapitel soll hierauf noch näher eingegangen werden (s.S.173).



Abb.7

Nr.1005: Adulte männliche Ratte, k e i n e ÄNH-Exposition.

Dieses Tier wurde zusammen mit Nrn.1001 - 1004 getötet, eine vorherige ^3H -Thymidin-Injektion erfolgte jedoch nicht. Nach Präparation des Gehirns wurde dieses der gleichen Weiterbehandlung unterzogen wie die Gehirne der o.g. Ratten. Es sollte als K o n t r o l l p r ä p a r a t zur Bestimmung der durch Umgebungsstrahlung bedingten autoradiographischen Grundmarkierung dienen ("Nullwert", "Grundschleier"; s.S.157).

Nr.1006: Tochter von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.o. geworfen am 21.12.75 - Alter: 216 Tage

Diese Ratte hatte im Laufe der vergangenen 4 Wochen eine zunächst links-betonte Paraparese der Hinterläufe entwickelt, welche schließlich sehr rasch bis zur kompletten Paraplegie mit Blasenlähmung fortschritt. Abb. 8 zeigt sehr deutlich die ausgeprägte links-konvexe Skoliose infolge einer primär auf dieser Seite aufgetretenen Lähmung der Rückenstrecker und die extreme Kachexie im Finalstadium.

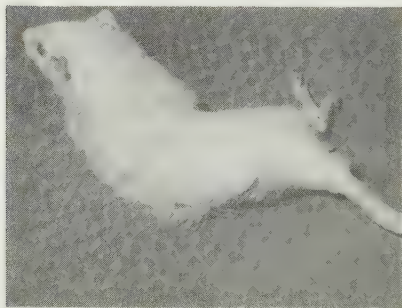


Abb. 8

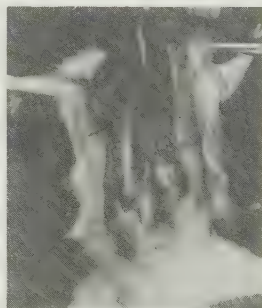


Abb. 9

Am 24.7.76 wurde das Tier getötet, das m a k r o s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g e Gehirn freipräpariert und fixiert. Weiter wurde auch das Rückenmark komplett freigelegt, wobei sich am Krümmungsscheitel der Skoliose eine umschriebene Anschwellung und rötlich-graue Verfärbung von 5 mm Länge und 3 mm Breite fand, links-betont vorwiegend im Bereich der Hinterstränge entwickelt (Abb.9). Dieser offensichtlich tumorös veränderte Abschnitt wurde ebenfalls fixiert. - Die histologische Untersuchung ergab die Diagnose: G l i o b l a s t o m , wiederholt jedoch perivasale zellfreie Höfe wie bei E p e n d y m o m .

Nr.1007: Sohn von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 216 Tage

Bei dieser Ratte hatte sich ebenfalls innerhalb der vergangenen 4 Wochen eine Paraplegie der Hinterläufe entwickelt, wobei beide Seiten von Anfang an etwa gleich stark betroffen waren. Eine Inkontinenz trat nicht ein, bis zuletzt befand sich das Tier in einem guten Allgemeinzustand. Am 24.7.76 wurde die Ratte getötet, das makroskopisch und auffällige Gehirn präpariert und fixiert. Bei der Darstellung des Plexus lumbosacralis vom Bauchraum her fiel zunächst eine deutliche Vorwölbung der rechtsseitigen Psoas-Muskulatur auf. Als Ursache hierfür ergab sich eine tumoröse, prall-elastische Neubildung, welche unterhalb des M.psoas paravertebral im Winkel zwischen den lumbalen Querfortsätzen und dem Darmbein entwickelt war. Bei der weiteren Präparation entleerte sich unter Druck schleimig-bröckeliges Material. Der Tumor wurde zunächst belassen und das RM von dorsal her freigelegt. Hier stieß man schließlich ebenfalls auf die paravertebral lokalisierte Geschwulst, welche mit einem zystischen Anteil bis in den Spinalkanal hineinreichte, hier mit der Cauda equina in unmittelbarem Kontakt stand und diese auch deutlich komprimierte. - Die feinhistologische Untersuchung ergab die Diagnose: zystisches Neurosarkom.

Nr.1008: Sohn von Nr.3014, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 223 Tage

Dieses Tier war erstmals 5 Wochen vorher durch typische Symptome einer Labyrinthitis auffällig geworden (unsicherer Gang mit Fallneigung, Kreiseln beim Hochnehmen am Schwanz, Kopfschiefhaltung). Nach vorübergehender Rückbildung dieser Erscheinungen kam es zu einem erneuten Auftreten der Symptomatik, einhergehend mit rasch fortschreitendem Verfall des Allgemeinzustandes. Präfinal fand keine Nahrungsaufnahme mehr statt, das Tier wirkte benommen, kippte beim Laufen immer wieder zur linken Seite (Abb.10); der Cornealreflex war beidseits nicht mehr auslösbar, schließlich trat noch ein ausgeprägter inspiratorischer Stridor hinzu, offenbar als Ausdruck einer Obstruktion im Nasenraum.

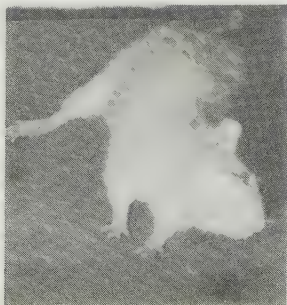


Abb.10

Am 31.7.76 wurde das Tier getötet. Beim Abtragen der Schädelkalotte fand sich eine deutliche intrakranielle Drucksteigerung, die Meningen waren verdickt und glasig getrübt. Aus beiden Felsenbeinmassiven entleerte sich Eiter. Nach Anheben des Gehirns stieß man auf einen etwa erbsengroßen Tumor, welcher median der Schädelbasis aufsaß und komprimierend gegen den Hirnstamm vorgewachsen war (Abb. 11a ↗). Während gegenüber dem angrenzenden Cerebrum eine gute Abgrenzbarkeit bestand, zogen beide Nn. trigemini in die Tumorkapsel hinein und verliefen sich in den Geschwulstmassen (Abb. 11b ↗). Die basalen Anteile des Neoplasmas waren bereits infiltrierend in den Nasenrachen vorgewachsen und hatten offensichtlich den beschriebenen inspiratorischen Stridor verursacht. Das Gehirn war im übrigen **m a k r o s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g**. Die histologische Untersuchung des Tumors ergab die Diagnose eines kleinzelligen, undifferenzierten **N e u r o s a r k o m s** (Trigeminus-Tumor).



Abb. 11a

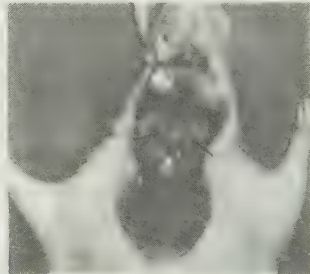


Abb. 11b

Nr.1009: Sohn von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition am 15.Tag p.c.,
geworfen am 23.12.75 - Alter: 221 Tage

Innerhalb von nur 2 Tagen hatte das Tier eine deutliche Schwäche des rechten Hinterlaufes entwickelt, 2 weitere Tage später war auch der linke Hinterlauf paretisch. Nach Ablauf einer Woche trat eine rasch progrediente Lähmung der Vorderläufe hinzu und schließlich war die Ratte infolge einer links-betonten Tetraplegie völlig bewegungsunfähig, außerdem bestand eine Blaseninkontinenz. Am 31.7.76 wurde das Tier getötet, das **m a k r o s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g e** Gehirn präpariert und fixiert. Nach Eröffnen der Bauchhöhle zeigte sich eine Überlauf-Retentionsblase. Das RM wurde von kranial her freigelegt; eine diskrete umschriebene Verdickung des Zervikalmarks weckte den Verdacht auf einen intramedullär wachsenden Tumor des Halsmarks. das übrige RM war makroskopisch unauffällig. - Die feinhistologische Untersuchung des

tumorös veränderten Zervikalmarks ergab die Diagnose: *m a l i g n e s G l i o m*, vereinzelt perivasale zellfreie Höhe wie bei *E p e n d y - m o m*; stellenweise Einwachsen in die Leptomeninx (Meningeosis gliomatosa).

Nr.1010: Tochter von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition am 15.Tag p.c.,
geworfen am 23.12.75 - Alter: 242 Tage

Die ersten Symptome einer beginnenden Paraparese der Vorderläufe hatten sich etwa 6 Wochen vorher daran erkennen lassen, daß das Tier beim Hochnehmen am Schwanz die vorderen Extremitäten nicht wie üblich ausstreckte, sondern diese an den Rumpf anlegte. Dieses Phänomen konnte später bei einer anderen Ratte im Stadium der sich abzeichnenden Parese ebenfalls beobachtet werden (Nr.1026). 3 Wochen später entwickelten sich dann eine rasch fortschreitende Lähmung beider Vorderläufe bis zur kompletten Diplegie und eine Blasenlähmung. Die hinteren Extremitäten wurden bis zuletzt gut bewegt.

Am 21.8.76 wurde das Tier getötet, das *m a k r o s k o p i s c h u n - a u f f ä l l i g e* Gehirn präpariert und fixiert. - Bei der Darstellung des kraniospinalen Übergangs fiel eine rötlich-graue Anschwellung und teilweise Erweichung des Zervikalmarks auf; die weitere Präparation ergab, daß sich die tumorösen Veränderungen bis in die periventrikulären Anteile des IV. Ventrikels fortsetzten. - Die histologische Untersuchung des Tumors ergab: *E p e n d y m o m* bzw. *E p e n d y m o b l a s t o m*.

Nr.1011: Sohn von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 265 Tage

Das Tier war bereits seit 3 Wochen durch eine deutliche Anämie und Verschlechterung des Allgemeinzustandes aufgefallen. Im weiteren Verlauf wurde das linke Auge zerstört und von einer dicken Blutkruste bedeckt vorgefunden (Abb.12a). Hinzu traten Blutungen aus der linken Nasenöffnung und eine subkutane Ekchymose über der Schnauze, welche schließlich zur vollständigen Ablederung der Haut führte. Als zusätzliches eindrucksvolles Symptom bestand ein ausgeprägter Priapismus (Abb.12b), welcher zusammen mit der Anämie, einer bei Eröffnung des Bauches sofort imponierenden Splenomegalie (Abb.12c) und dem raschen allgemeinen Verfall sehr deutlich für das Vorliegen einer *L e u k o s e* sprach.

Am 11.9.76 mußte das Tier getötet werden. Nach Abtragen der Schädelkalotte fiel eine subarachnoidale Blutansammlung auf, hauptsächlich im Spalt zwischen Groß- und Kleinhirn gelegen (Abb.12d). Diese war als leukämisches Infiltrat oder Ausdruck einer allgemeinen Blutungsneigung zu deuten. Das Gehirn war im übrigen *m a k r o s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g*. - Der linke N.trigeminus zeigte sich in seinem Verlauf entlang der Schädelbasis verdickt und dunkel verfärbt. Bei der weiteren Frei-

legung stieß man schließlich auf einen haselnußgroßen Tumor, welcher unter Arrosion der umgebenden knöchernen Strukturen in die linke Orbita eingewachsen war. Der Bulbus oculi war nahezu vollständig mit der Geschwulst verbacken, die Cornea durch Einblutung in die vordere Augenkammer vom übrigen Augapfel abgehoben. Eine umschriebene Verfärbung und diskrete Auftreibung des linken distalen Fasc. opticus sprach für eine Einbeziehung in die offenbar vom N. trigeminus ausgehende Geschwulst, allerdings war auch eine eigenständige neoplastische Umwandlung denkbar. - Die histologische Untersuchung der Präparate ergab folgende Diagnosen:

- 1.) Neurosarkom
- 2.) Meningeosis leucaemica

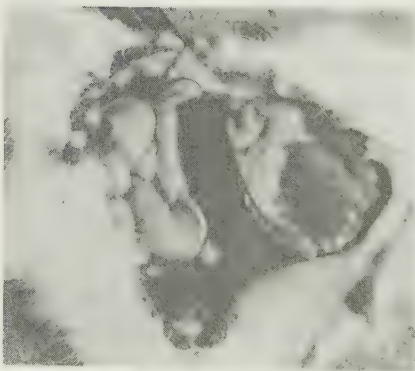
Abb. 12



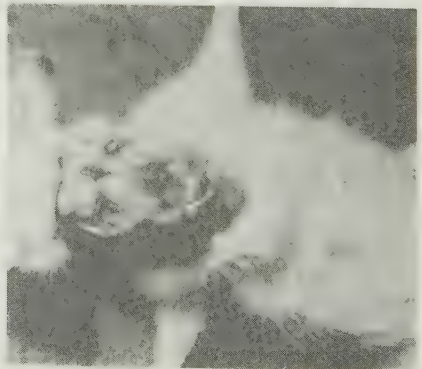
a₁



b₁



c₁



d₁

Nrn.1012-1014: 3 Söhne von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition
am 15.Tag p.c., geworfen am 23.12.75 - Alter: 272 Tage
und Nr.1015: Sohn von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition
am 17.Tag p.c., geworfen am 21.12.75 - Alter: 274 Tage

Diese 4 Ratten wurden wie die Tiere Nrn.1001-1004 ebenfalls für den
A u t o r a d i o g r a p h i e -Versuch ausgewählt und am 20.9.76
nach vorheriger Injektion von ^3H -Thymidin getötet. Keines der Tiere
hatte bis dahin irgendwelche Symptome einer Tumorentwicklung (neural
bzw.extraneural) erkennen lassen. Auch bei der anschließenden Sektion
fand sich kein Neoplasma, insbesondere waren die Gehirne m a k r o -
s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g .

Bei Nr.1014, einem Bruder von Nr.1004, fand sich die gleiche urin-
gefüllte Zyste im subkutanen Gewebe des Unterbauchs wie bei seinem
Brudertier (Abb.7). Auch dieser Sektionsbefund konnte im Sinne eines
Urachus persistens interpretiert werden; diese Deutung war allerdings
hier insofern noch sicherer zu belegen, als zwischen Blase und genann-
ter Zyste ein harngefüllter Schlauch freigelegt werden konnte.

Nr.1016: 18 Wochen - alte männliche Ratte, k e i n e ÄNH-Exposition.
Dieses Tier wurde zusammen mit Nrn.1012-1015 nach vorheriger ^3H -Thymi-
din-Injektion getötet. Das Gehirn wurde präpariert, fixiert und als
K o n t r o l l p r ä p a r a t verwendet. Es wurde später zur Beant-
wortung der Frage herangezogen, ob auch in n i c h t -kanzerogenexpo-
nierten Gehirnen umschriebene Ansammlungen radioaktiv markierter Zellen
anzutreffen sind, welche mit Frühstadien gliogener Hirntumoren verwech-
selt werden können (J.ALTMAN, 1963).

Nr.1017: Sohn von Nr.3014, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 293 Tage
Innerhalb eines Zeitraums von ca.4 Wochen hatte sich eine schlaffe
Parese des linken Vorderlaufes entwickelt, einhergehend mit einer deut-
lichen Verschmächtigung der gesamten Extremität. Besonders betroffen
waren dabei die Fuß- und Zehenstrecker (Abb. 13a).
Am 9.10.76 wurde das Tier getötet, das m a k r o s k o p i s c h u n -
a u f f ä l l i g e Gehirn präpariert und fixiert. Bei Freilegung des
linken Plexus brachialis fand sich ein rundlicher, zystischer Tumor von
ca. 1 cm Durchmesser, welcher unter guter Abgrenzbarkeit gegenüber der
Umgebung in die proximale Extremitätenmuskulatur eingebettet war. Min-
destens 2 Plexus-Faszikel zogen in die Tumorkapsel und gingen in dieser
auf (Abb. 13b~~AK~~). - Die histologische Untersuchung des Tumors ergab ein
z y s t i s c h e s N e u r o - F i b r o s a r k o m .

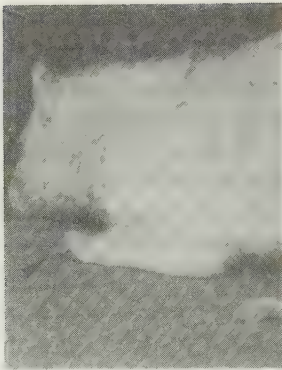
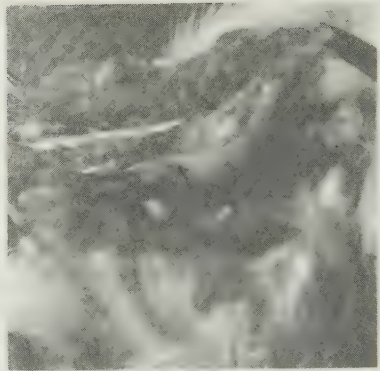


Abb.13

a)



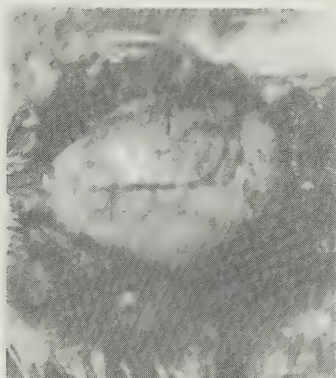
b)

Nr.1018: Sohn von Nr.3014, intrauterine ANH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 293 Tage

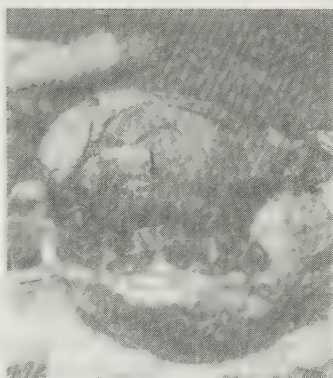
Bei dieser Ratte hatten sich innerhalb von 8 Tagen ein rasch zunehmender
inspiratorischer Stridor entwickelt, der rechtsseitige Cornealreflex
war erloschen. Zuletzt kam es zu einem sehr schnellen allgemeinen Ver-
fall und am 9.10.76 mußte das Tier getötet werden.

Nach Eröffnung des Bauchraumes stellte sich der gesamte Magen-Darm-Kanal
enorm gebläht dar, möglicherweise als Folge eines paralytischen Ileus.
Während die Kalotte entfernt wurde, drängte das Gehirn bereits deutlich
hervor, was für eine intrakranielle Drucksteigerung sprach. Die Menin-
gen waren verdickt und sulzig-getrübt, besonders über der linken He-
misphäre (Abb.14a). Unterhalb der rechten Hemisphäre wölbte sich ein
zwischen Cerebrum und seitlicher Schädelbasis lokalisierter, grauroter
Tumor hervor (Abb.14a u.b). Die weitere Darstellung ergab ein von der
Großhirnhemisphäre gut abgegrenztes, die gesamte Schädelbasis bedecken-
des Neoplasma, welches offenbar vom rechten N.trigeminus seinen Ausgang
nahm. Der Tumor war infolge zystisch-regressiver Veränderungen und Ein-
blutungen stark vergrößert, hatte sich expansiv gegen die rechte Groß-
hirnhälfte vorgewölbt und war auch durch die Schädelbasis hindurch in
den Nasen-Rachenraum eingewachsen. - Das im übrigen makrosko-
pisch unauffällige Gehirn wurde zusammen mit dem Tu-
mor und den veränderten Meningen präpariert und fixiert. Die feinhisto-
logische Untersuchung ergab:

- 1.) zellreicher, teils neurinomartiger,
teils meningeomartiger Tumor
- 2.) Sarkomatose der Pachymeninx



a,



b,

Abb. 14

Nr. 1019: Tochter von Nr. 3014, intrauterine ANH-Exposition am 17. Tag p.c.
geworfen am 21.12.75 - Alter: 324 Tage

Das Tier war ca. 3 Wochen vorher durch eine rasch progrediente Schwäche beider Hinterläufe - mit leichter Linksbetonung - aufgefallen. Innerhalb von 5 Tagen hatte sich dann eine komplette Paraplegie entwickelt, zusätzlich bestand eine links-konvexe Skoliose der BWS. Schließlich trat auch noch eine Schwäche beider Vorderläufe auf, welche zuletzt in eine komplette Tetraplegie mündete.

Am 9.11.76 wurde die Ratte dann getötet, das makroskopisch unauffällige Gehirn präpariert und fixiert. Bei Eröffnung des Abdomens fand sich eine überdehnte Retentionsblase; die Muskulatur der Hinterläufe war stark atrophisch, ein peripher lokalisierter Nerventumor konnte nicht entdeckt werden. Das RM stellte sich am kraniospinalen Übergang verdickt dar, seine ventralen Anteile wiesen bräunlich-verfärbte, regressive Veränderungen auf. Diese schienen sich bis in die rostrale Medulla oblongata fortzusetzen. Schließlich stieß man noch in Höhe von BWK₅₋₇ auf eine diskrete Auftreibung der Rückenmarksubstanz.

Die histologische Untersuchung der fraglichen tumorösen RM-Veränderungen ergab:

Malignes gliomatöses Tumorgewebe, stellenweise in die Meningen durchgebrochen (Meningeosis gliomatosa).

Nr.1020: Sohn von Nr.3016, intrauterine ANH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 341 Tage

Seit etwa 10 Tagen bestand eine allgemeine Bewegungsunsicherheit, welche allmählich bis zur völligen Gang- und Standunfähigkeit fortschritt. Präfinal waren beide Cornealreflexe erloschen, das Tier lag im Käfig und warf sich schon bei geringen äußeren Reizen von einer Seite zur anderen, wobei es teilweise ganz bizarre Körperhaltungen einnahm (Abb.15a). An den Vorderläufen fanden sich Zeichen einer Automutilation, ein deutlicher inspiratorischer Stridor war Hinweis auf eine Atemwegsobstruktion im Bereich des Nasenraums. Da eindeutige Lähmungserscheinungen fehlten, war die gesamte Symptomatik offenbar Zeichen eines erhöhten Schädelinnendrucks; ein Trigeminus-Tumor war zu vermuten.

Am 26.11.76 mußte das Tier getötet werden. Bereits beim Entfernen des Schädeldaches zeigte das hervordrängende Gehirn den stark erhöhten intrakraniellen Druck an. Nach Anheben des Cerebrums stieß man auf einen ausgedehnten glasigen Tumor, der sich auf beiden Schädelbasis-Hälften vom Clivus bis zum Frontalpol erstreckte und das Gehirn massiv nach oben verdrängt hatte (Abb.15b); beide Nn.trigemini waren mit der Geschwulst verbacken. Der teils zystische, teils solide Tumor hatte stellenweise die knöcherne Basis zerstört und war bereits in die linke Nasenhöhle vorgewachsen.

Das im übrigen makroskopisch unauffällige Gehirn wurde ebenso wie das Neoplasma freipräpariert und fixiert. - Die feinhistologische Auswertung des Geschwulstgewebes konnte den Verdacht auf einen Trigeminustumor bestätigen, es handelte sich um ein Neurofibrosarkom.

Abb. 15



a)



b)

Nr.1021: Tochter von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 398 Tage

Bei dieser Ratte war bereits 4 Monate vorher eine geringe motorische Beeinträchtigung des linken Hinterlaufes aufgefallen. Diese Symptomatik blieb während der folgenden 3 Monate in etwa konstant. Erst dann trat eine weitere Progredienz der neurologischen Ausfälle ein, die schließlich auch den rechten Hinterlauf erfaßten und zu einer kompletten Paraplegie mit Blasenlähmung führten. Eine ausgeprägte links-konvexe Skoliose der BWS mit hernienartiger Vorwölbung der offensichtlich ebenfalls gelähmten linksseitigen Bauchmuskulatur trat noch hinzu und sprach ihrerseits für das Vorliegen eines RM-Tumors.

Die am 22.1.77 durchgeführte Sektion konnte diese Verdachtsdiagnose bestätigen: Zwischen BWK₇ und LWK₃ fand sich das Rückenmark über eine Länge von ca. 25 mm verdickt und unter erheblichem Druck in den Spinalkanal eingepreßt (Abb.16). - Das Gehirn zeigte sich bei der Präparation makroskopisch unauffällig. Die histologische Untersuchung des RM-Tumors ergab die Diagnose:

Ependymom.

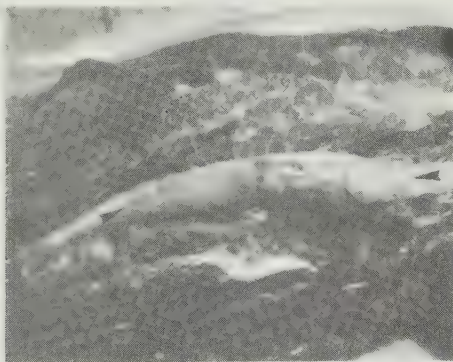


Abb.16

Nr.1022: Tochter von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 398 Tage

Innerhalb von ca. 3 Wochen hatte sich ein zuletzt walnuß-großer Tumor subkutan im rechten oberen Brustbereich entwickelt, welcher gegenüber Haut und Unterlage verschieblich und offenbar nicht-entzündlicher Genese war. Ansonsten war das Tier unauffällig, insbesondere war bis zuletzt keine neurologische Symptomatik zu beobachten.

Am 22.1.77 wurde die Ratte getötet. Der subkutane Tumor war von bindegewebig-derber Natur und maß ca. 25 x 15 mm (Abb.17a). Da er mit einer in unmittelbarer Nachbarschaft lokalisierten Mamille über eine feine Gewebsbrücke in Verbindung stand, mußte ein fibrös-adenomatöser Mammatumor angenommen werden.

Bei der Freilegung des Gehirns fiel eine diskrete Vergrößerung der rechten Hemisphäre auf (Abb.17b), im Bereich des Frontalpolis fand sich eine kleine, glasige Vorwölbung, aus welcher nach Inzision seröse Flüssigkeit abfloß.

Dies war der erste makroskopisch erkennbare Hirntumor! Entwicklungsdauer bis dahin: 403 Tage.
Die histologische Untersuchung des subkutanen Tumors ergab ein Fibroadenom der Mamma.

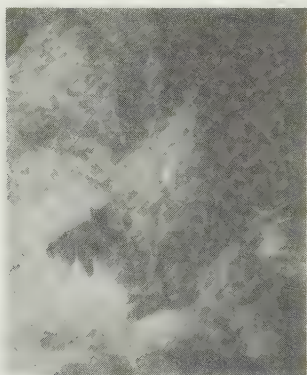


Abb. 17

a,



b,

Nr.1023: Tochter von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition am 15.Tag p.c.
geworfen am 23.12.75 - Alter: 413 Tage

Das Tier hatte zum ersten Male ca. 6 Wochen vorher eine leichte Bewegungsunsicherheit beider Hinterläufe gezeigt, welche sich nach vorübergehender Rückbildung schließlich rasch progredient entwickelte und auch auf die oberen Extremitäten übergriff. Zuletzt bestand eine an den Hinterläufen betonte Tetraplegie mit ausgeprägter Atrophie der Extremitäten- und Rumpfmuskulatur.

Am 8.2.77 wurde die Ratte getötet, das makroskopisch und auffällige Gehirn präpariert und fixiert. - Bei der Freilegung des Rückenmarks fand sich dieses zwischen HWK₇ und BWK₈ in einer Länge von etwa 30 mm glasig-getrübt und verdickt. Im RM-Querschnitt stellte sich makroskopisch ein zentralständiger, zystischer Tumor dar. Seine spätere feinhistologische Untersuchung ergab die Diagnose: malignes Gliom, mit typischen Merkmalen eines "Glioblastoms".

Nr.1024: Sohn von Nr.3014, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 449 Tage

Über einen Zeitraum von mehreren Wochen hinweg hatte sich der Allgemeinzustand des Tieres langsam progredient verschlechtert, die Ratte war allmählich schwächer und hinfalliger geworden. Abgesehen von einer leichten

Gangunsicherheit hatte sich jedoch bis zuletzt keine eigentliche neurologische Symptomatik erkennen lassen. In den letzten 9 Tagen hatte sich dann eine rasch an Umfang zunehmende Vorwölbung der Kopfhaut über dem Schädeldach gezeigt, die schließlich - bei nahezu halbkugeliger Gestalt - einen Durchmesser von ca. 15 mm erreicht hatte (Abb.18a). Sie war von prall-elastischer Konsistenz und gegenüber der Kalotte nicht verschieblich. Hinweise auf eine entzündliche Genese waren nicht festzustellen. Am 14.3.77 wurde das Tier getötet. Nach Eröffnen der Bauchhöhle zeigte sich die linksseitige Zwerchfellkuppel stark herabgedrängt. Daraufhin wurde die Thoraxhöhle inspiziert, wobei man auf einen etwa pflaumen-großen höckerigen Tumor stieß, welcher das gesamte Thorax-Cavum nahezu vollständig ausfüllte und den teilweise in die Neubildung einbezogenen linken Lungenflügel (↙) nach ventral verdrängt hatte (Abb.18b). Die von einer glatten Kapsel umgebene Geschwulst war gegenüber den Nachbarstrukturen des Mediastinums und der Pleurahöhle gut abgegrenzt und nahm ihren Ausgang möglicherweise von einem Abschnitt des mit ihr makroskopisch in geweblichem Kontakt stehenden Lungenflügels. Beim Aufschneiden quoll grauer, feinkörniger Inhalt aus der Kapsel.

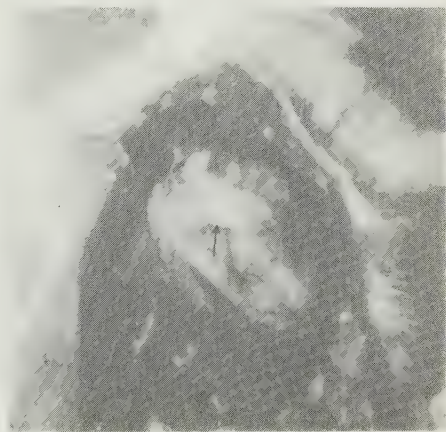
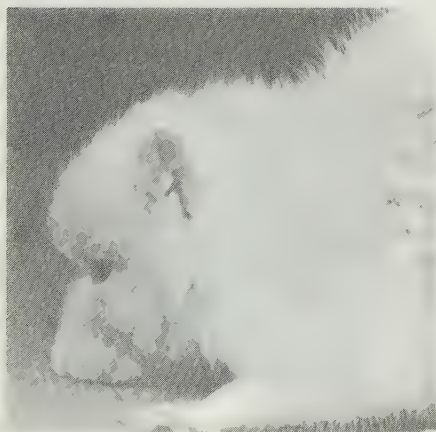


Abb. 18 a,

b,

Nach Abpräparieren der Kopfhaut stieß man auf einen kugeligen, allseits glatt begrenzten Tumor (Abb.18c), durch dessen glasige Kapselwand hindurch teils zystische, teils solide Abschnitte zu erkennen waren, in welchen offenbar auch bereits stärkere Einblutungen stattgefunden hatten. Das Neoplasma wurde abgetragen und es zeigte sich, daß dieses über einen etwa 5 mm im Durchmesser haltenden Defekt in der Kalotte mit dem Schädelinnenraum in direkter Verbindung stand (Abb.18d, e). Nach Abheben der Schädeldecke konnte man die Ansatzstelle des extrakraniellen Geschwulstanteils an der stellenweise bis auf 3 mm verdickten Dura erkennen

Die histologische Beurteilung des intrathorakalen Neoplasmas ergab die Diagnose eines v e r h o r n e n d e n P l a t t e n e p i t h e l - K a r z i n o m s . - Bei dem intrakraniellen Tumor handelte es sich um ein s p i n d e l z e l l i g e s M e n i n g e a l - S a r k o m .

Nr.1025: Tochter von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 573 Tage

Innerhalb von 4 Tagen hatte sich eine rasch fortschreitende Gangunsicherheit mit Fallneigung nach beiden Seiten entwickelt, der Allgemeinzustand verschlechterte sich rapide. Zuletzt bestand eine hochgradige Tetraparese, der linke Cornealreflex war erloschen.

Am 16.7.77 mußte das Tier getötet werden. Nach retrograder Perfusion des Cerebrums mit 5%-igem Formalin über die rechte V. jugularis wurde das Gehirn freigelegt. Dieses stand unter mäßig erhöhtem Druck, als dessen Ursache eine eitrig-grüne Abszeßmasse auszumachen war, welche sich von basal her gegen die leicht vergrößerte linke Hemisphäre vorwölbte und unter Einbeziehung des linken N.trigeminus einen Großteil dieser Hirnhälfte einzunehmen schien. Als möglicher Ausgangsort dieses eitrig-entzündlichen Prozesses war eine purulente Labyrinthitis zu vermuten.

Die histologische Untersuchung konnte einen großen, von temporobasal in die linke Hemisphäre eingedrungenen Abszeß nachweisen (s.a.S.172).

Nr.1026: Tochter von Nr.3014, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 573 Tage

Als besonderes Kennzeichen dieses Tieres bestand eine angeborene Verkürzung des Schwanzes (Abb.19), welche möglicherweise auf die teratogene Wirkung des ÄNH zurückzuführen war. Hinweise auf eine traumatische oder andere Genese ließen sich jedenfalls nicht finden. - Die Ratte war seit etwa 3 Wochen durch eine progrediente Gangunsicherheit aufgefallen, die immer deutlicher in eine Tetraparese überging. Beide Cornealreflexe waren zuletzt erloschen. Auch hier hatte sich übrigens im Stadium der beginnenden Lähmung das bereits bei Nr.1010 beschriebene Phänomen des Anlegens beider Vorderläufe beim Hochnehmen am Schwanz als frühes Paresezeichen beobachten lassen.

Am 16.7.77 mußte das Tier auf Grund seines schlechten Allgemeinzustandes getötet werden. Nach Eröffnen des Hirnschädels fand sich neben den Zeichen stark erhöhten intrakraniellen Druckes eine grau-gelbliche Substanzvermehrung über der rechten Hemisphäre, bei welcher es sich entweder um purulent-entzündliches Exsudat oder aber um eine Verdickung der Meningen handeln konnte. Besonders ausgeprägt war dieser Befund im temporo-basalen Bereich der rechten Hemisphäre. Da sich auf dieser Seite aus dem Labyrinth massiv Eiter entleerte, war ein Empyem zu vermuten. -

Das Gehirn war im übrigen m a k r o s k o p i s c h u n a u f -
f ä l l i g .

Die histologische Untersuchung ergab das Vorliegen multipler Abszeß-
knoten im temporalen Cortex der rechten Hemisphäre (s.a.S.172).

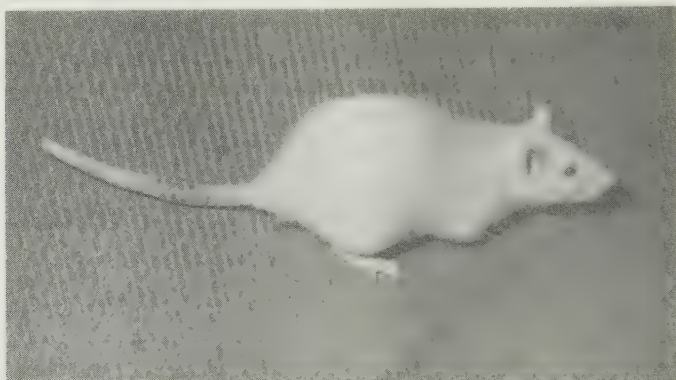


Abb. 19

Nr.1027: Tochter von Nr.3016, intrauterine ANH-Exposition am 17.Tag p.c.
geworfen am 21.12.75 - Alter: 661 Tage

In einem Zeitraum von 4 Monaten hatten sich zwei langsam wachsende sub-
kutane Tumoren entwickelt: der eine am lateralen Unterbauch rechts mit
fraglicher Beziehung zu einer Mamille, der andere in der linken ventra-
len Achselregion. Beide waren gegenüber der Unterlage verschieblich, es
bestand offenbar kein Druckschmerz. Während die Neubildung am Unterbauch
eine solide, derbe Konsistenz aufwies, fühlte sich die andere mehr lap-
pig-weich an. Zu neurologischen Symptomen kam es bis zuletzt nicht.

Da die Ratte schließlich durch die beiden Tumoren sehr stark behindert
war, mußte sie am 12.10.77 getötet werden. Bei der Präparation stellte
sich die kastaniengroße Geschwulst am Unterbauch als äußerst derb und von
fibröser Beschaffenheit dar, die erwähnte Beziehung zur Mamille war nicht
eindeutig auszumachen. Hingegen zeigte der etwas kleinere Tumor in der
Achselregion einen zystischen Aufbau, beim Freipräparieren entleerte sich
ein sehr weicher, talgig-fettiger Inhalt von zitronengelber Farbe.

Das Gehirn war m a k r o s k o p i s c h u n a u f f ä l l i g . -

Die histologische Untersuchung der beiden Tumoren ergab:

- 1.) Faserreiches F i b r o a d e n o m der Mamma
- 2.) Zystisch veränderte Hautanhangsdrüse, vermutlich gestaute
Milchdrüse; k e i n Anhalt für tumoröses Wachstum im
engeren Sinne.

Nr.1028: Tochter von Nr.3016, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 661 Tage

Auch hier hatte sich innerhalb von ca. 10 Monaten eine zuletzt etwa 3,5 cm im Durchmesser haltende Vorwölbung der Regio publica rechts paramedian gebildet, welche von sehr weicher Konsistenz und über der Unterlage verschieblich war. Wegen der am Ende sehr großen Geschwulstausmaße mußte auch dieses Tier schließlich getötet werden (12.10.77). Dabei fand sich ein ebenfalls zystischer subkutaner Tumor, der sowohl vom äußeren Aspekt her als auch hinsichtlich seines Inhalts der zuletzt beschriebenen Geschwulst von Tier Nr.1027 vergleichbar war. Das Gehirn zeigte makroskopisch keine Veränderungen. Histologisch handelte es sich um ein unilokuläres zystopapilläres Adenom, eher reaktiver als neoplastischer Natur (vermutlich auch hier eine gestaute Milchdrüse).

Nr.1029: 10 Monate alte männliche Ratte, keine ÄNH-Exposition

Das Gehirn dieses Tieres wurde in Ergänzung zu Nr.1016 ebenfalls als Kontrollpräparat in die Untersuchungen einbezogen; auch hier unter der Fragestellung, ob die nicht-kanzerogenexponierten Gehirne lichtmikroskopisch fokale Gliaproliferationen aufweisen, welche möglicherweise mit Tumorfrühstadien zu verwechseln wären.

Nr.1030: Tochter von Nr.3010, intrauterine ÄNH-Exposition am 15.Tag p.c.,
geworfen am 23.12.75 - Alter: 697 Tage

Innerhalb von etwa 2 Wochen war es zu einem rapiden Verfall des Allgemeinzustandes gekommen, ohne daß sich Hinweise für dessen Ursache finden ließen. Sichere neurologische Auffälligkeiten bestanden nicht. Am 19.11.77 wurde das Tier tot im Käfig aufgefunden. Da die noch deutlich feststellbare Körpertemperatur und weitgehend fehlende Totenstarre für einen nicht weit zurückliegenden Todeszeitpunkt sprachen, wurde das Gehirn präpariert und fixiert. Es stellte sich bereits leicht zerfließlich dar, war jedoch im übrigen makroskopisch unauffällig. Die Sektion brachte keinen Hinweis auf die Todesursache.

Nr.1031: Tochter von Nr.3014, intrauterine ÄNH-Exposition am 17.Tag p.c.,
geworfen am 21.12.75 - Alter: 727 Tage

Unter den rasch fortschreitenden Symptomen einer Labyrinthschädigung (Kopfschiefhaltung, Fallneigung, Kreiseln) hatte sich das Tier rapide verschlechtert und mußte schließlich am 17.12.77 in moribundem Zustand getötet werden. Bei der Präparation des Gehirns fand sich eine erhebliche intrakranielle Drucksteigerung. Der laterale Pol der rechten Kleinhirnhemisphäre fehlte und war durch ein offenbar aus dem Felsenbeinlabyrinth durchgebrochenes, teils eitriges, teils derb-solides

Gewebe ersetzt. Abgesehen davon war das Cerebrum makroskopisch unauffällig.

Die histologische Untersuchung des nach intrakraniell eingedrungenen Gewebes ergab überraschenderweise ein vermutlich vom Ohr ausgehendes verhornendes Plattenepithelkarzinom mit zentralen Nekrosen.

II Lichtmikroskopische und autoradiographische Auswertung der Hirnschnitte

1. Zusammenfassende Darstellung der nachgewiesenen Proliferate:

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der lichtmikroskopischen und autoradiographischen Auswertung der Hirn-Stufenschnitte zusammenfassend dargestellt. Die einzelnen neoplastischen Proliferate jedes Gehirns werden gemäß ihrer lokalisatorischen Reihenfolge von frontal nach occipital - bzw. von basal nach parietal - mit röm. Zahlen gekennzeichnet und kurz hinsichtlich ihrer Histologie, Lokalisation sowie ihrer Größe beschrieben. Bei den autoradiographisch bearbeiteten Präparaten (Nrn. 1001-1005, 1012-1016) werden außerdem der Markierungsindex (J_M) und die Zelldichte pro Flächeneinheit (Z/F) angegeben. Die arab. Zahlen (in Klammern) geben für jedes Proliferat die fortlaufende Numerierung seiner mikroskopischen Stufenschnitt-Repräsentation wieder. Zusätzlich wird jedes Neoplasma (bzw. präneoplastische Veränderung) entsprechend seiner Größe und seines Wachstumsverhaltens in ein 4 Stadien umfassendes Proliferationsschema eingeordnet. Hierfür werden die Bezeichnungen "FNP₁", "FNP₂", "Mik" u. "Mak" verwendet (für "Frühe neoplastische Proliferation", "Mikro"- u. "Makrotumor"). Eine genaue Definition dieser Stadieneinteilung findet sich auf S. 140.

Schließlich werden sämtliche blastomatösen Proliferate in ein jeweils am Textende befindliches Schnittbild-Diagramm eingezeichnet. Tafel I zeigt zur Erläuterung der im Text genannten lokalisatorischen Details die wesentlichen anatomischen Strukturen des Rattengehirns (s.S. 57).

Präparat Nr. 1001:

- I (1-10)/Mik: Zelldichtes, Oligodendrogliom-artiges Tumorphiliferat im Pons unterhalb des 4. Ventrikels, scharf gegenüber der Umgebung abgegrenzt.
Durchmesser: 700 μm
 $J_M = 1,2\%$; $Z/F = 110/(100 \mu\text{m})^2$
- II (1-34): Blastomatöse Zellproliferation in den Meningen an der Außenseite des Pons, teilweise Oligodendrogliom-artig und nicht sicher von den submeningealen Randbezirken des Pons zu trennen (Meningeosis gliomatosa ?)
Durchmesser: ca. 1000 μm
 $J_M = 3,0\%$; $Z/F = 140/(100 \mu\text{m})^2$
- III (22-35)/FNP₂: Blastomatöser Fokus im subkortikalen Marklager am Hinterrand des rechten Hippocampus (mittelgroße, Astrozyten-ähnliche Zellen mit relativ chromatin-armen Kernen).
Durchmesser: 350 μm
 $J_M = 2,7\%$; $Z/F = 42/(100 \mu\text{m})^2$
- IV (28-35)/FNP₁: Dicht neben III gelagertes praetumoröses Areal im angrenzenden Cortex; histologischer Aufbau wie bei III.
Durchmesser: 250 μm
 $J_M = 2,6\%$; $Z/F = 31/(100 \mu\text{m})^2$
- V (47-54)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Proliferat in st.nasc.am rostralen Ende des linken Seitenventrikels, im Winkel zwischen Corpus callosum u. Nucl. caudatus. Geringe Vermehrung Oligodendroglia-ähnlicher Zellen, Satellitose. Identifizierbar durch eine rötliche Färbung ("Metachromasie") der aufgelockerten Interzellularsubstanz.
Durchmesser: 300 μm
 J_M u. Zelldichte sind wegen der unmittelbaren Nachbarschaft zur mitose- u. zellreichen subependymalen Matrixzone (SMZ) nicht sicher zu bestimmen.
- VI (48-65)/FNP₂: Aus 2 ursprünglich getrennten Herden konfluierendes Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager am Außenrand des linken Hippocampus. Schalenförmig an das Ammonshorn angelagert, mit einem Durchmesser von ca. 1200 μm u. einer Dicke von 200 μm .
 $J_M = 2,3\%$; $Z/F = 30/(100 \mu\text{m})^2$

VII (53-57)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Proliferat in st.nasc., dem rostralen Ende des linken Seitenventrikels vorgelagert und zu V eng benachbart, jedoch sicher davon getrennt; Oligodendrozyten-ähnliche Zellen.

Durchmesser: 400 μm

$$J_M = 3,0\%; \quad Z/F = 11/(100 \mu\text{m})^2$$

VIII(68-73)/FNP₁: Kleiner blastomatöser Fokus im subkortikalen Marklager am lateral-hinteren Rand des linken Hippocampus, Proliferation Astrozyten-ähnlicher Zellen.

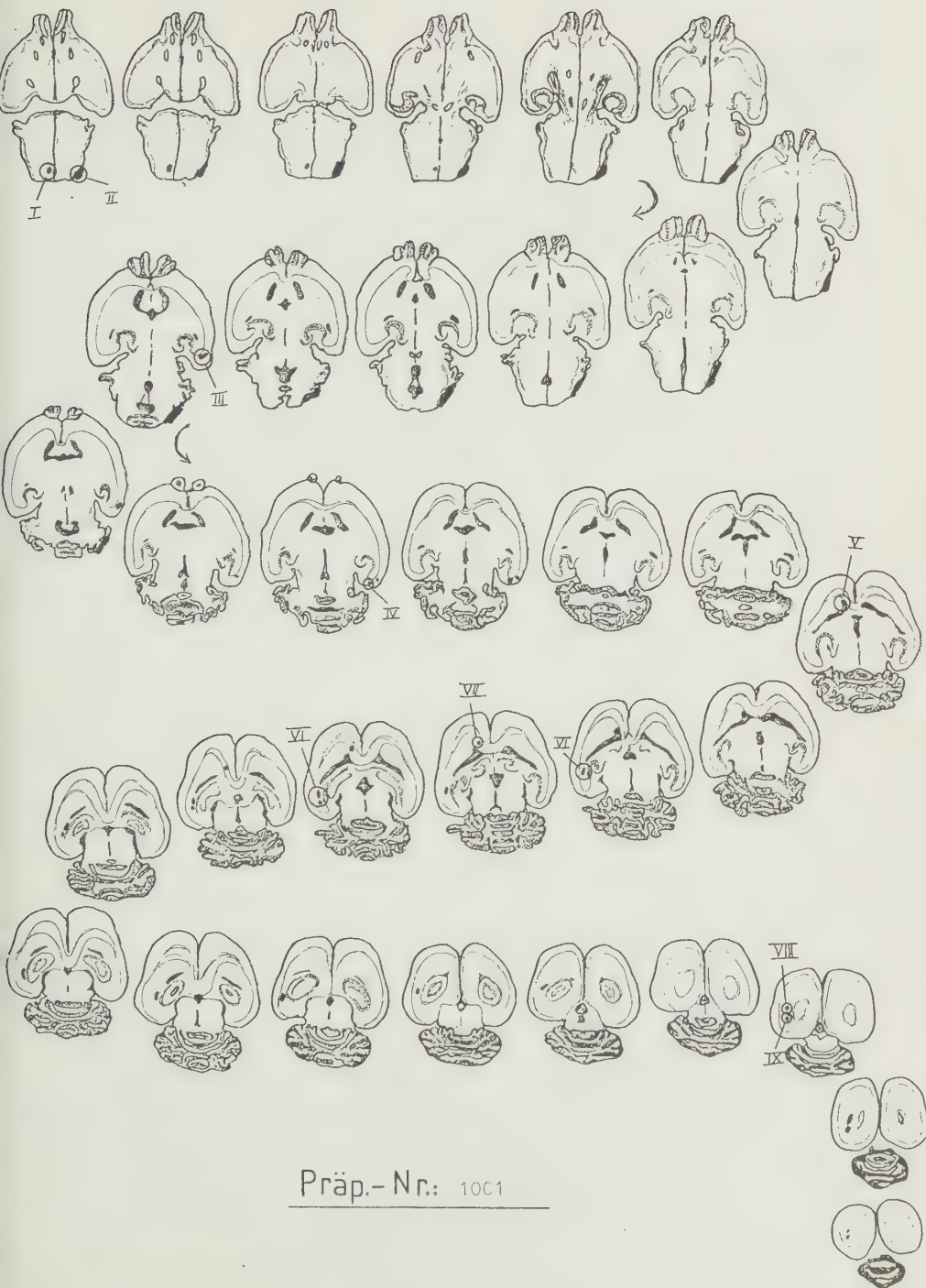
Durchmesser: 150 μm

$$J_M = 2,7\%; \quad Z/F = 33/(100 \mu\text{m})^2$$

IX (68-74)/FNP₂: Kleines neoplastisches Proliferat in enger Nachbarschaft zu VIII, jedoch deutlich davon getrennt; histologisch VIII entsprechend.

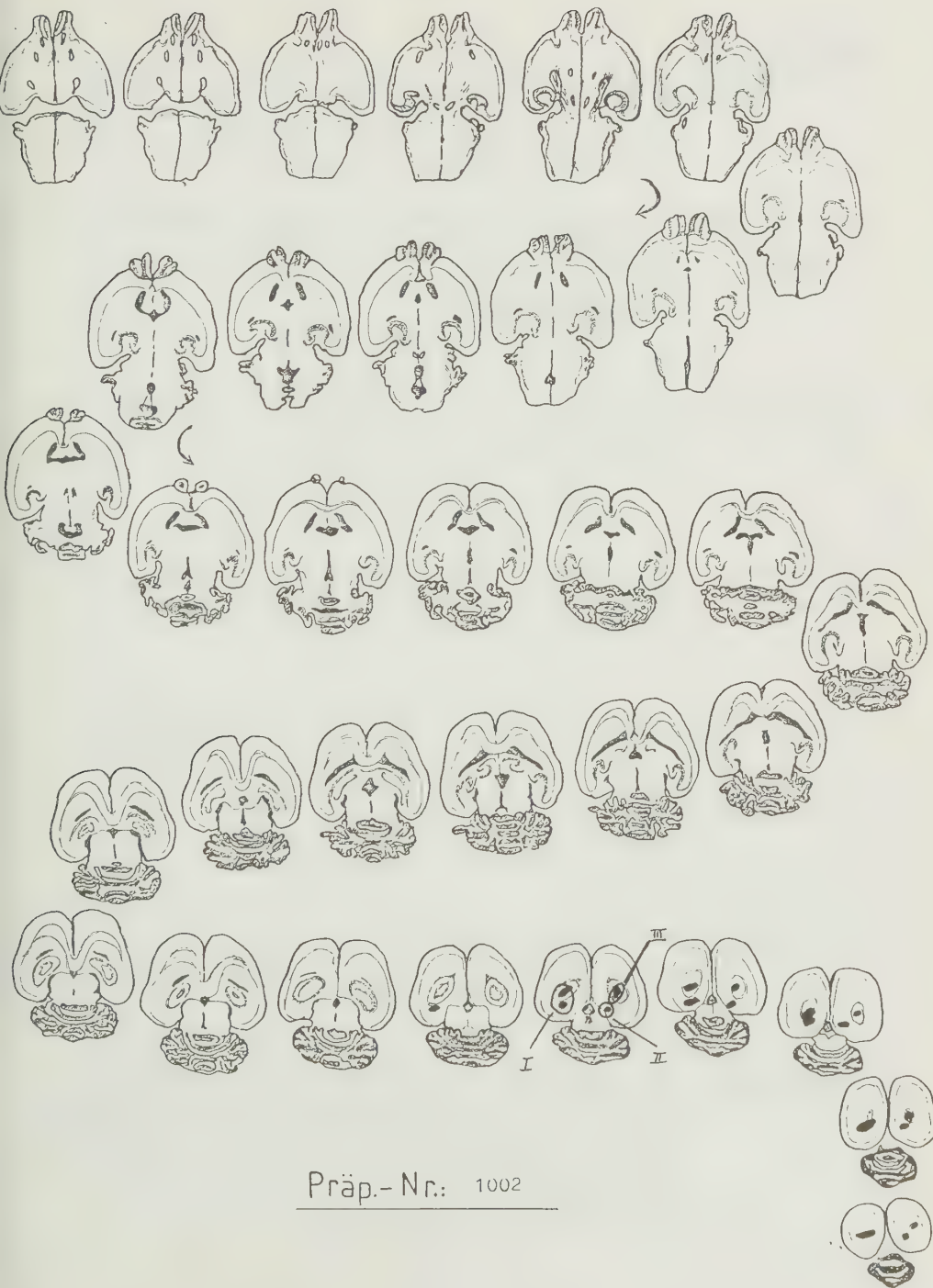
Durchmesser: 300 μm

$$J_M = 3,2\%; \quad Z/F = 40/(100 \mu\text{m})^2$$



Präparat Nr. 1002:

- I (68-77)/FNP₂: Weitmaschiges, relativ großflächiges Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager oberhalb des linken Ammonshornes, aus 2 Herden konfluierend.
Durchmesser: 1300 μm
 $J_M = 1,8\%$; $Z/F = 20/(100 \mu\text{m})^2$
- II (73-80)/FNP₂: Kleines blastomatöses Proliferat im Cortex am seitlichen hinteren Rand des rechten Hippocampus, eng benachbart zu III (Oligodendrozyten- bzw. Astrozyten-ähnliche Zellen).
Durchmesser: 400 μm
 $J_M = 1,4\%$; $Z/F = 30/(100 \mu\text{m})^2$
- III (73-80)/FNP₂: Gliöses Zellproliferat im subkortikalen Marklager oberhalb des rechten Ammonshornes; zu II eng benachbart, jedoch deutlich davon getrennt.
Durchmesser: 400 μm
 $J_M = 0,3\%$; $Z/F = 10/(100 \mu\text{m})^2$



Präparat Nr. 1003:

- I (41-54)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Fokus im rechten Hirnschenkel; glißes Proliferat Oligodendrozyten-ähnlicher Zellen.
Durchmesser: 600 μm
 $J_M = 1,3\%$; $Z/F = 27/(100 \mu\text{m})^2$
- II (50-55)/FNP₁: Kleinster Fokus proliferierender Oligodendrozyten in st. nasc., im Cortex des linken Occipitalpols; teilweise in die Meningen infiltrierend.
Durchmesser: 350 μm
 $J_M = 3,5\%$; $Z/F = 30/(100 \mu\text{m})^2$
- III (54-62)/FNP₂: Aus 2 Herden konfluierendes Proliferat Oligodendrozyten-ähnlicher Zellen, inner- und außerhalb der Körnerzellschicht im occipitalen Bereich des linken Hippocampus. - Durchmesser: 600 μm
 $J_M = 3,9\%$; $Z/F = 30/(100 \mu\text{m})^2$
- IV (56-62)/FNP₁: Kleinstes praetumoröses Proliferat im Cortex des linken Occipitalpols, histologisch wie II.
Durchmesser: 400 μm
 $J_M = 2,7\%$; $Z/F = 34/(100 \mu\text{m})^2$
- V (56-61)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Fokus Astrozyten-ähnlicher Zellen (mittelgroße Zellen mit relativ geringem Chromatingehalt der längsovalen Kerne) im subkortikalen Marklager am occipitalen Außenrand des linken Ammonshornes.
Durchmesser: 350 μm
 $J_M = 0$; $Z/F = 19/(100 \mu\text{m})^2$
- VI (57-66)/FNP₂: Glißes Zellproliferat (Oligodendrozyten-ähnlich) im Cortex des linken Occipitalpols, eng benachbart zu II, jedoch deutlich davon getrennt.
Durchmesser: 470 μm
 $J_M = 2,8\%$; $Z/F = 24/(100 \mu\text{m})^2$
- VII (57-60)/FNP₁: Eng umschriebene Vermehrung der ortsständigen Oligodendroglia in der Körnerschicht des linken occipitalen Cortex; frühes praeneoplastisches Proliferat in Form der periganglionären Satellitose.
Durchmesser: 200 μm
 $J_M = 2,3\%$; $Z/F = 21/(100 \mu\text{m})^2$

- VIII(59-61)/FNP₁: Kleinster blastomatöser Fokus in st. nasc. am Innenrand der Körnerzellschicht des linken Ammonshornes, lateral von III und deutlich davon getrennt.
Durchmesser: 250 μm
 $J_M = 4,0\%$; $Z/F = 20/(100 \mu\text{m})^2$
- IX (60-68)/FNP₂: Weitmaschiges Proliferat gliöser Zellen in der Fissura hippocampi links, aus 3 Einzelherden konfluierend (undifferenzierte Zellen (?), teilweise an Astrozyten, teilweise an Oligodendrozyten erinnernd).
Länge: 1000 μm , Breite: 500 μm
 $J_M = 1,8\%$; $Z/F = 25/(100 \mu\text{m})^2$
- X (62-73)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Fokus im subkortikalen Marklager am occipito-lateralen Außenrand des rechten Hippocampus (Astrozyten-ähnlich).
Durchmesser: 600 μm
 $J_M = 2,1\%$; $Z/F = 25/(100 \mu\text{m})^2$
- XI (66-75)/FNP₁: Kleines neoplastisches Proliferat im subkortikalen Marklager am Hinterrand des rechten Ammonshornes, medial von X und deutlich davon getrennt (Astrozyten-ähnlich).
Durchmesser: 450 μm
 $J_M = 0$; $Z/F = 13/(100 \mu\text{m})^2$
- XII (66-71)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen in st.nasc., occipital von XI; vom subkortikalen Marklager teilweise in den Cortex eindringend.
Durchmesser: 300 μm
 $J_M = 1,5\%$; $Z/F = 21/(100 \mu\text{m})^2$
- XIII (70-73)/FNP₁: Kleines Proliferat aus Astrozyten-ähnlichen Zellen im subkortikalen Marklager am Außenrand des rechten Hippocampus.
Durchmesser: 200 μm
 $J_M = 2,2\%$; $Z/F = 13/(100 \mu\text{m})^2$
- XIV (65-69)/FNP₁: Kleiner blastomatöser Fokus im subkortikalen Marklager am Hinterrand des linken Ammonshornes (Astrozyten-ähnlich).
Durchmesser: 220 μm
 $J_M = 3,7\%$; $Z/F = 12/(100 \mu\text{m})^2$

XV (71-75)/FNP₂: Kleines Proliferat im subkortikalen Marklager am Außenrand des linken Ammonshornes; Astrozyten-ähnlich.

Durchmesser 280 μm

$$J_M = 1,8\%; \quad Z/F = 11/(100 \mu\text{m})^2$$

XVI (78-83)/FNP₂: Großflächiges, aus 3 Einzelherden konfluierendes Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager oberhalb des rechten Ammonshornes.

Durchmesser: 350 μm

$$J_M = 3,5\%; \quad Z/F = 17/(100 \mu\text{m})^2$$

Die Proliferate II, IV - IX u. XIV in der linken Hippocampus-Formation und die Proliferate X - XIII in der rechten Hippocampus-Formation liegen sehr eng benachbart. Durch die im Abstand von 60 μm angefertigten Stufenschnitte läßt sich zeigen, daß sie untereinander in keinem erkennbaren Kontakt stehen. In Abb. 20a, u.b, kann man das multifokale Wachstum isolierter Tumorfrühstadien erkennen.

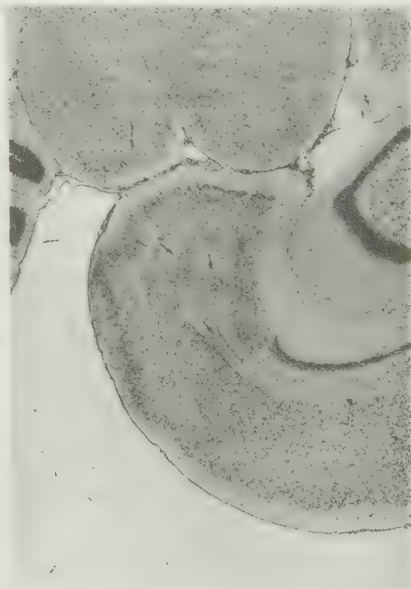
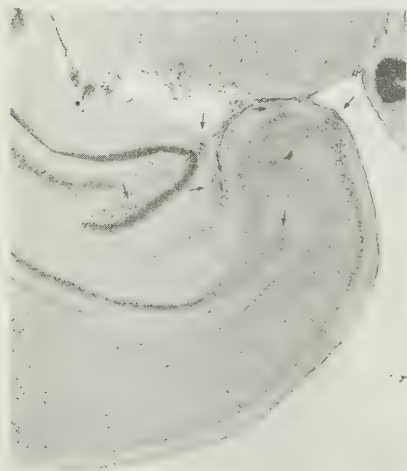
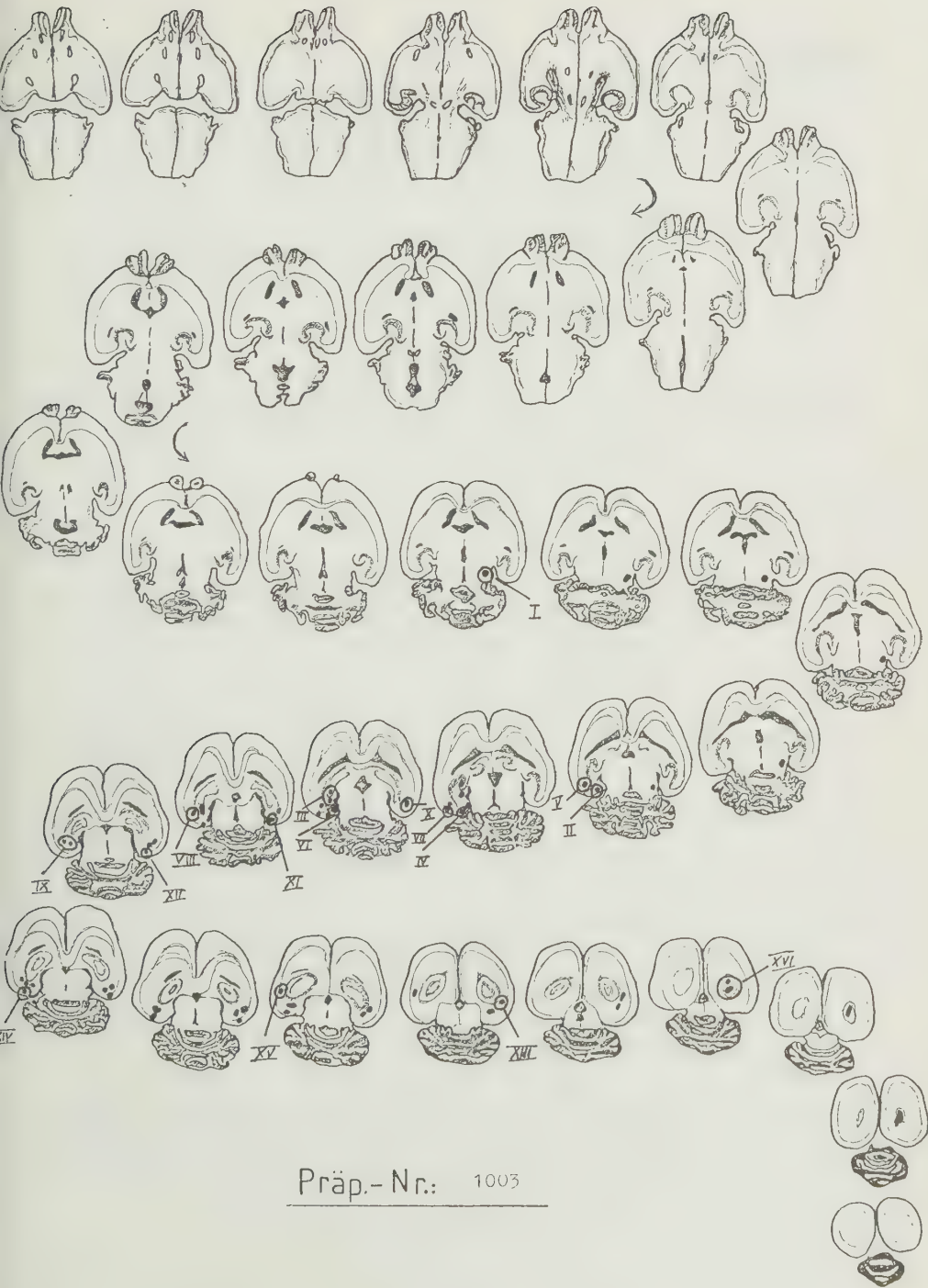


Abb. 20a,

b,



Präparat Nr. 1004:

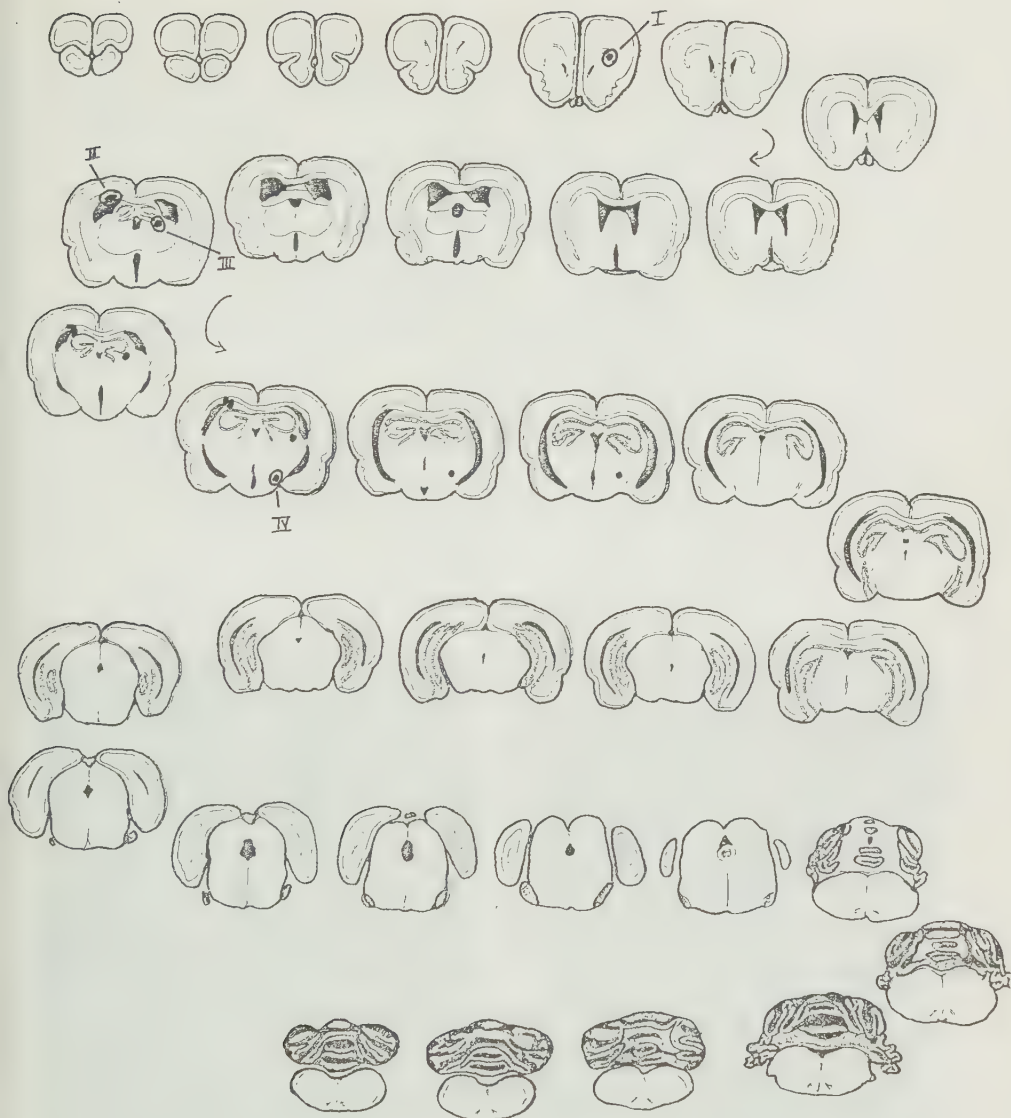
- I (2-7)/FNP₁: Blastomatöses Glia-Proliferat in st.nasc. am Außenrand des linken Striatum. Oligodendrozyten-ähnliche Zellen in Form der periganglionären Satellitose.
Durchmesser: 230 μm
 $J_M = 4,4\%$; $Z/F = 52/(100 \mu\text{m})^2$
- II (2-6)/FNP₁: Eng umschriebene Vermehrung der periganglionären Oligodendroglia (wie I), etwas weiter occipital und deutlich getrennt von I.
Durchmesser: 200 μm
 $J_M = 5,7\%$; $Z/F = 40/(100 \mu\text{m})^2$
- III (3-7)/FNP₁: Kleines blastomatöses Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager am Außenrand des linken Ammonshornes.
Durchmesser: 220 μm
 $J_M = 4,0\%$; $Z/F = 18/(100 \mu\text{m})^2$
- IV (34-70)/FNP₂: Zelldichtes Proliferat (mittelgroße Zellen mit relativ chromatinarmem, blasigem Kern; Astrozyten-ähnlich, undifferenzierte Gliazellen?), am Außenrand des linken Hirnstamms. an der Grenze zum Kleinhirn.
Durchmesser: 600 μm
 $J_M = 3,7\%$; $Z/F = 90/(100 \mu\text{m})^2$
- V (61-84)/FNP₂: Blastomatöses Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager am Außenrand des rechten Ammonshornes, aus 2 Einzelherden konfluierend; langgestreckt und flach zwischen den Fasern der weißen Substanz an der hinteren-äußeren Begrenzung des Seitenventrikels.
Durchmesser: 1100 μm
 $J_M = 2,4\%$; $Z/F = 40/(100 \mu\text{m})^2$
- VI (70-72)/FNP₁: Kleinstes Proliferat in st.nasc., histologisch wie V und zu diesem eng benachbart.
Durchmesser: 160 μm
 $J_M = 2,5\%$; $Z/F = 40/(100 \mu\text{m})^2$
- VII (80-83)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Fokus im subkortikalen Marklager occipital u. oberhalb des rechten Hippocampus, eng benachbart zu V (Astrozyten-ähnlich).
Durchmesser: 250 μm
 $J_M = 2,5\%$; $Z/F = 40/(100 \mu\text{m})^2$

Präparat Nr. 1006:

Auch bei mehrmaliger lichtmikroskopischer Durchmusterung sämtlicher Stufenschnitte läßt sich in diesem Gehirn **k e i n** blastomatöses Proliferat nachweisen. Der bereits erwähnte Rückenmarkstumor soll in einem späteren Kapitel noch näher beschrieben werden.

Präparat Nr. 1007:

- I (17-19)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Oligodendroglia-Proliferat in st.nasc. am Oberrand des linken Striatum; nur geringe Vermehrung der ortsständigen Oligodendrozyten. Rötliche Einfärbung u. Auflockerung der Interzellularsubstanz als hauptsächliches Merkmal der frühen neoplastischen Veränderung.
Durchmesser: 150 µm
- II (33-44)/FNP₂: Gliöses Tumorzellproliferat am Außenrand des rechten S V , aus 3 Einzelherden konfluierend; gemischtzelliger Aufbau aus Astrozyten, Oligodendrozyten und nicht näher einzuordnenden Gliazellen (undifferenzierte Zellen der subependymalen Platte ?).
Durchmesser: 1000 µm
- III (37-43)/Mik: Zelldichter oligodendroglomatöser Mikrotumor mit deutlicher "Honigwaben"-Struktur im oberen Randgebiet des linken Thalamus, unterhalb der Fimbria hippocampi.
Durchmesser: 900 µm
- IV (43-44)/FNP₂: Kleines blastomatöses Proliferat am Unterrand des linken Thalamus, weitmaschig (Oligodendroglia ?).
Durchmesser: 700 µm



Präparat Nr. 1008:

I (71-74)/FNP₂: Gliöses Zellproliferat im Cortex, dem linken Tapetum eng benachbart; zelldicht, aus 3 Einzelfoci konfluierend. Deutliche Satellitose der Oligodendrozyten-ähnlichen Zellen.

Länge: 1300 µm (durch Konfluenz), Breite: 450 µm

II (100-101)/FNP₂: Blastomatöses Oligodendroglioma-Proliferat im Pons zwischen den Fasern des rechten N. facialis, weitmaschig.

Durchmesser: ca. 600 µm

Sarkomatose der basalen Zisternen, ausgehend von dem undifferenzierten Neurosarkom der Schädelbasis (Trigeminus-Tu). Ausbreitung in den weichen Hirnhäuten, perivasale Tumorinfiltration im Zwischenhirn (Abb. 21a, u. b.).

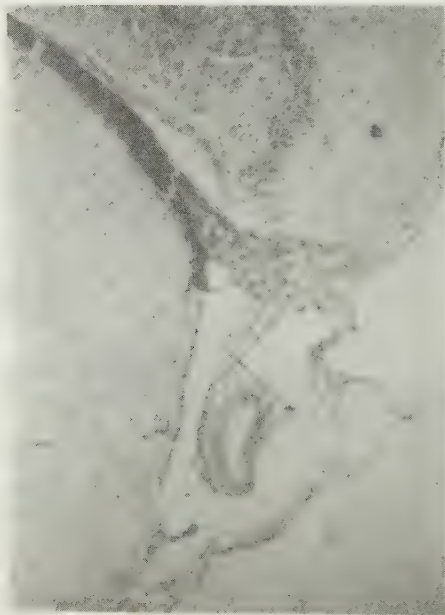
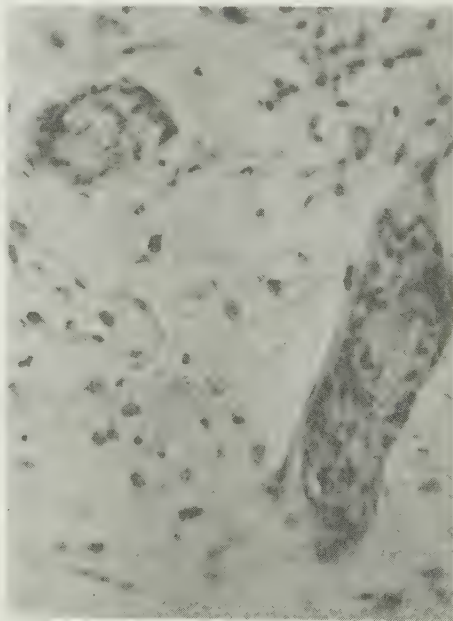
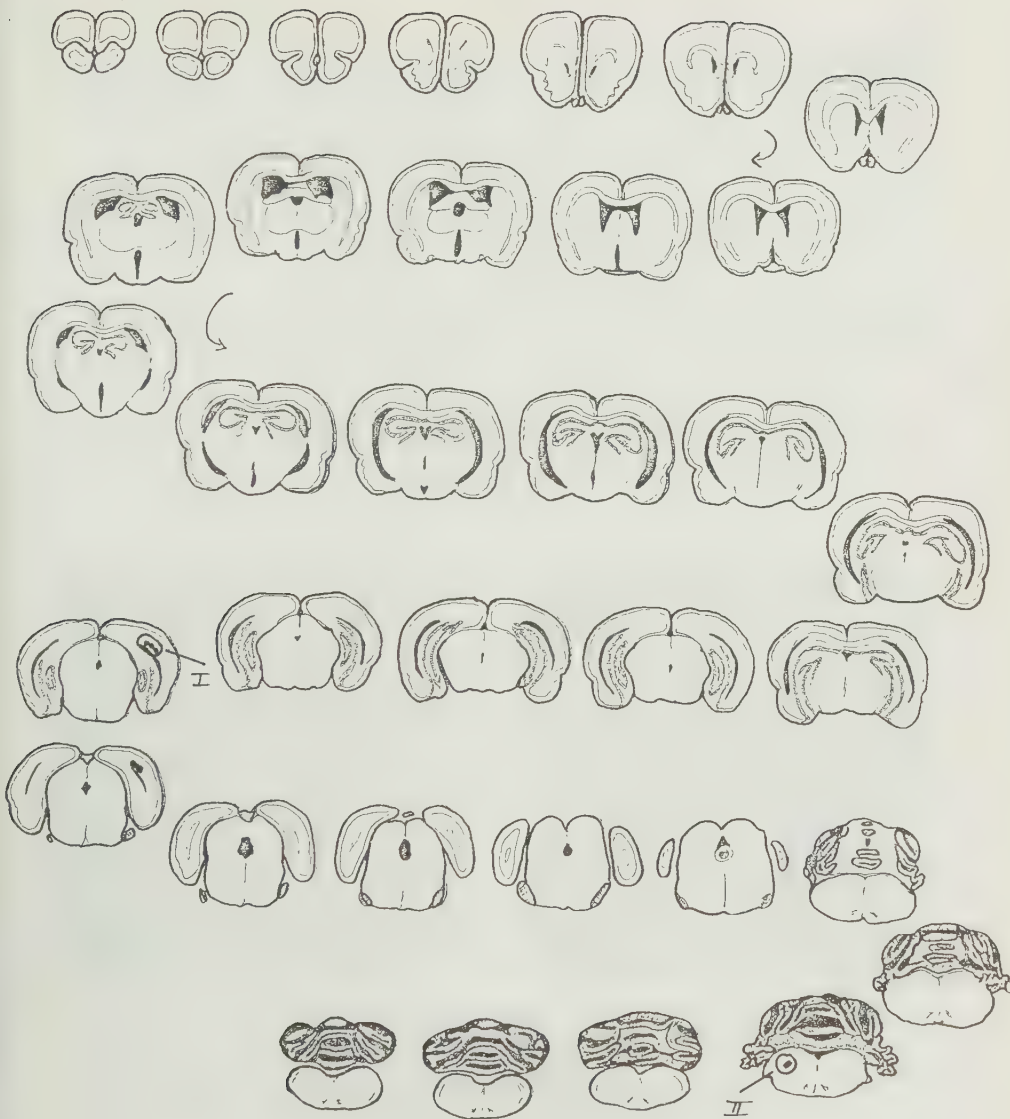


Abb. 21 a)



b)



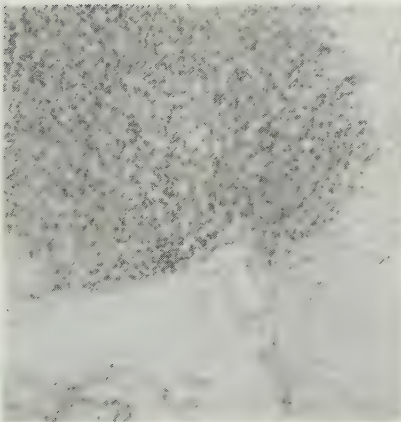
Präparat Nr. 1009:

- I (53-54)/FNP₂: Weitmaschiges gliomatöses Proliferat am unteren Außenrand des linken Seitenventrikels, mit fraglicher Beziehung zur subependymalen Matrixzone. Zellen mit chromatinreichen Kernen und etwas größere Zellen mit helleren Kernen (Oligodendrozyten/Zellen der subependymalen Platte ?).
Durchmesser: 500 µm
- IIa (56-70): Zellreiches, pleomorphes Tumorproliferat mit histologischen Merkmalen eines Astrozytoms; teilweise zeigen die Zellen auch eine ganglioide Struktur. Der Tumor ist im Tuber cinereum rechts paramedian lokalisiert und durch ein Gefäßnetz gegenüber dem Hirnparenchym abgegrenzt. Möglicherweise infiltriert das Geschwulstgewebe von extrazerebral in das Zwischenhirn hinein (Abb. 22a, b₁).
- III (55-64)/FNP₂: Kleines oligodendroglomatöses Proliferat im medialen Cortex des rechten Temporallappens.
Durchmesser: 600 µm
- IV (59-70)/FNP₂: Blastomatöses Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen im subkortikalen Marklager und angrenzenden Neocortex am Oberrand des rechten Seitenventrikels; aus 3 Einzelherden konfluierend. Eng benachbart zu III, jedoch ohne Verbindung hierzu.
Durchmesser: 600 µm
- IIb (61-70): Zellreiches Tumorproliferat im Spalt zwischen dem linken Temporallappen und dem Hirnstamm. Histologisch identisch mit IIa; vermutlich von extrazerebral in den Hirnstamm infiltrierend. Gefäßreichtum in den Randbezirken.
- IIc (86-88): Zellreiches Geschwulstgewebe (wie IIa u. b), der linken Kleinhirnhemisphäre von unten aufgelagert.
- IIId(101-113):Tumorproliferat (histologisch wie die vorhergehenden) am rechten Außenrand des 4.Ventrikels, teilweise in die Medulla oblongata infiltrierend.
- IIe (101-103):Geschwulstgewebe in der Leptomeninx zwischen seitlicher Med. obl. und Kleinhirn rechts (den vorhergehenden Proliferaten entsprechend).
- IIIf (103-111):4 Geschwulstproliferate am ventralen Außenrand des verlängerten Markes, histologisch identisch mit IIa - e.

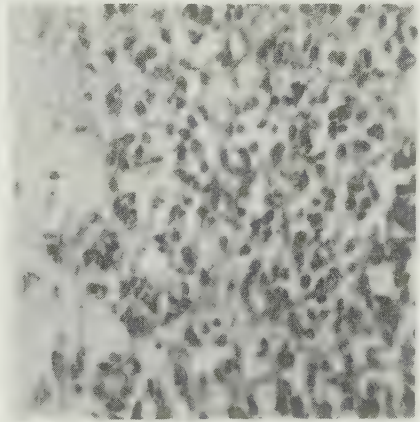
IIg (105-109): Kleines blastomatöses Proliferat am linken lateralen Oberrand der Med. obl.; histologisch den vorhergehenden entsprechend.

Zu IIa-g: Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine M e t a s t a - s' i e r u n g im Liquorraum: alle Proliferate zeigen den selben histologischen Aufbau; sie liegen alle oberflächennah bzw. im Liquorraum selbst, die keilförmige Struktur der in die Basis der Med. obl. infiltrierenden Proliferationsherde spricht für ihren primären Ausgang von den basalen Cisternen her (Abb.22c).

Möglicherweise kann das im Zervikalmark lokalisierte maligne Gliom als Primärtumor angesehen werden. Die dort zu beobachtende tumoröse Infiltration der spinalen Meningen (Meningeosis gliomatosa) könnte eine Metastasierung erklären (siehe Kap.D/II 2, S. 151 ff.).



a,



b,

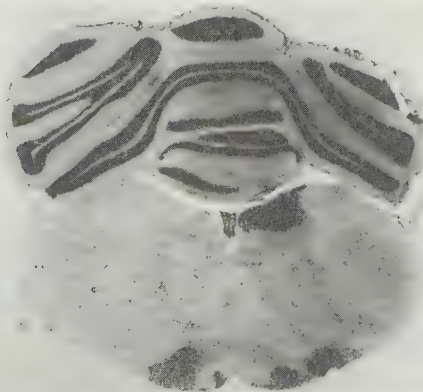
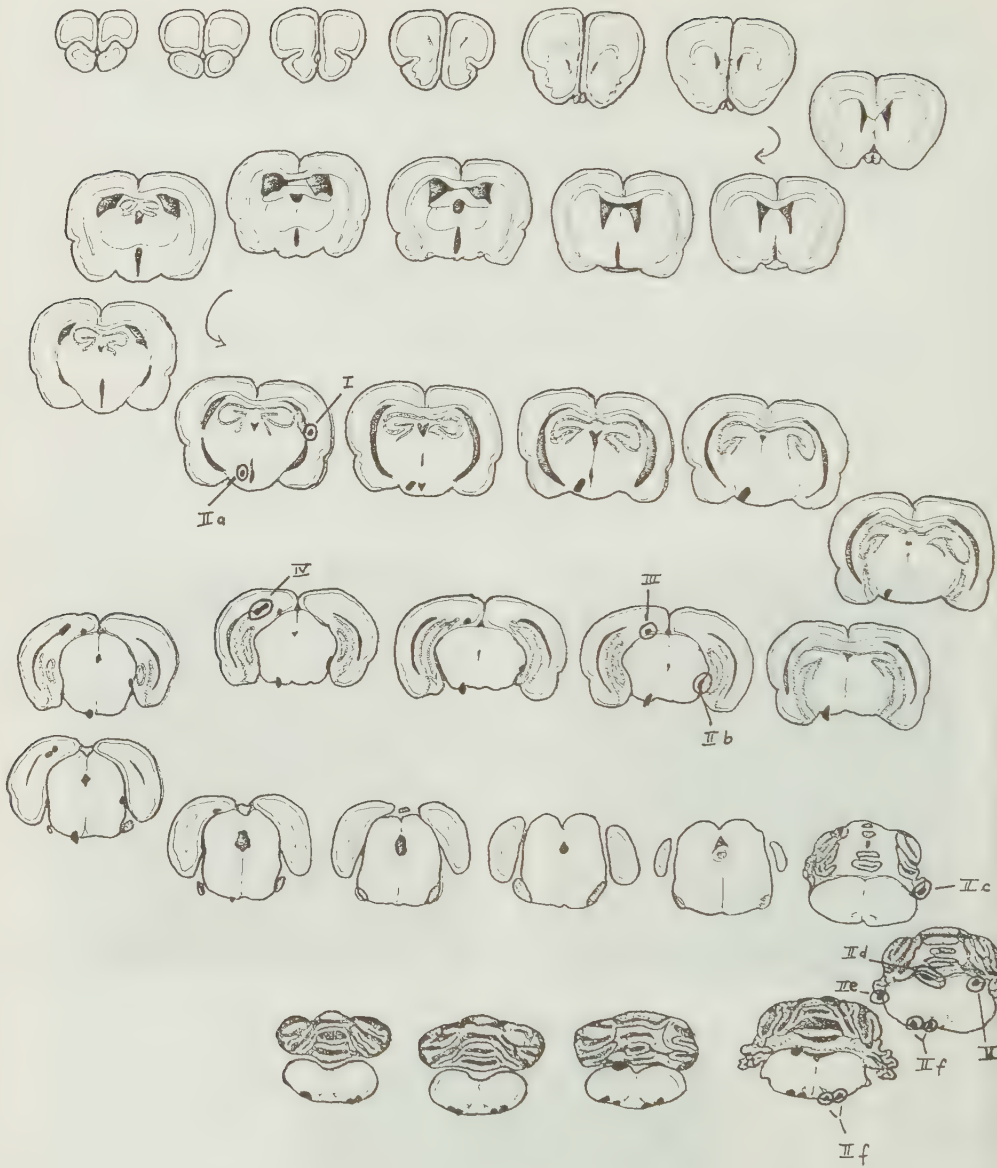


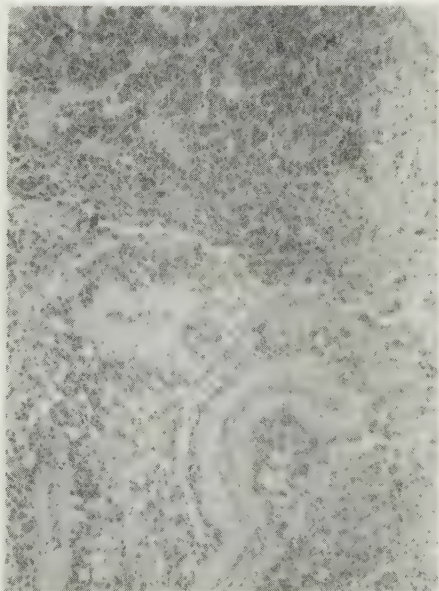
Abb. 22

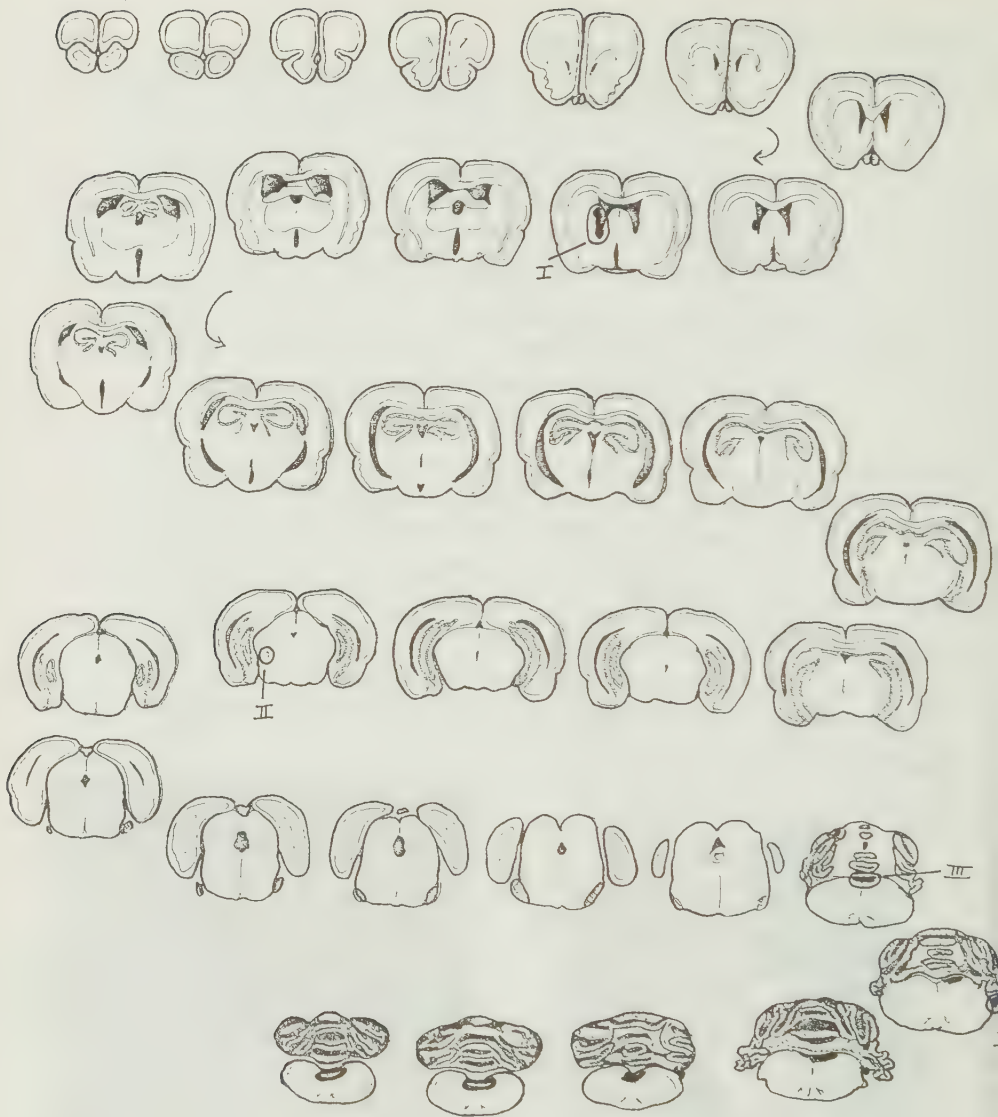


Präparat Nr. 1010:

- I (35-40)/Mik: Oligodendrogliomatöser Mikrotumor, von der subventrikulären Region des rechten Seitenventrikels ausgehend, aus 2 Herden konfluierend. Das wenig zelldichte Proliferat besteht zum größeren Teil aus typischen Oligodendrozyten, zum kleineren aus Zellen, die der subependymalen Matrixzone zu entstammen scheinen.
Länge: 2700 μm , Breite: 600 μm
- II (59-61)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Proliferat in st. nasc.; isomorphe Oligodendrozyten in der linken Substantia reticularis mesencephali.
Durchmesser: 400 μm
- III (94-120)/Mak: Ependymom bzw. Ependymoblastom im Boden des 4. Ventrikels. Bildung eines zentralen Hohlraums (mit Ependymauskleidung ?), perivasale kernfreie Höfe (Abb. 23a, b). Der Tumor setzt sich in das Zervikalmark fort.
- IV (97-108): Tumorproliferat (histologisch wie III) im Subarchnoidalraum, zwischen Med. oblong. und Kleinhirn-Paraflocculus. Möglicherweise Tumoraussaat von III (Abb. 23a, ). b,

Abb. 23 a,

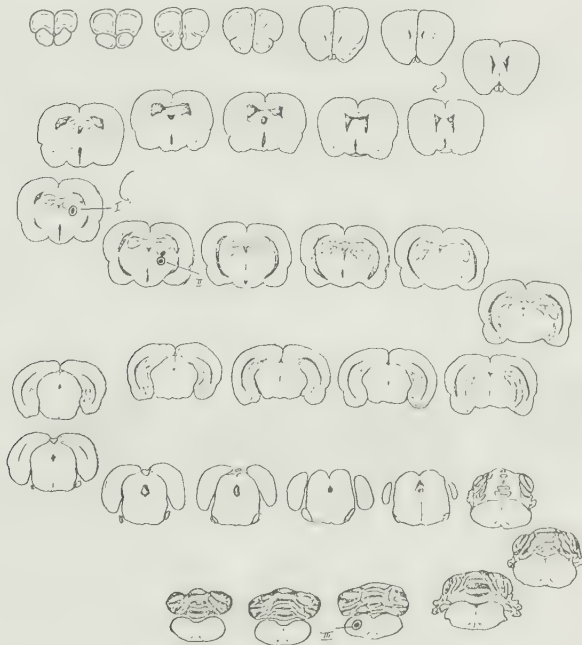




Präparat Nr. 1011:

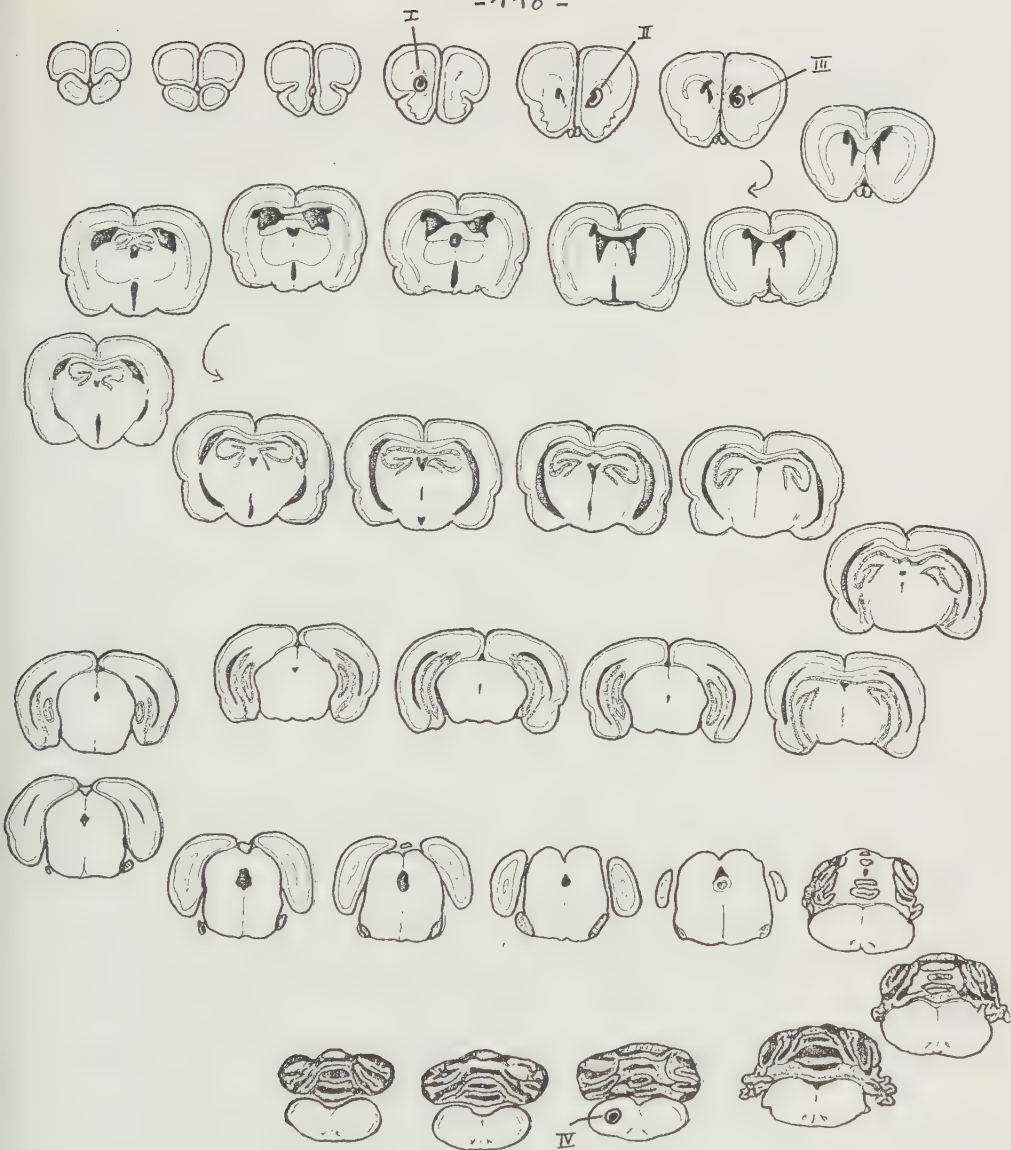
- I (42-45)/FNP₂: Kleines Oligodendroglia-Proliferat am Oberrand des linken Thalamus, unterhalb der Hippocampus-Formation; relativ zell dicht.
Durchmesser: 350 μ m
- II (43-44)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Oligodendroglia-Proliferat in st. nasc., eng benachbart zu I, jedoch deutlich davon getrennt.
Durchmesser: 350 μ m
- III (104-108)/FNP₁: Kleinster blastomatöser Fokus proliferierender Oligodendrozyten in der Med.oblong., am rechten Außenrand der Formatio reticularis.
Durchmesser: 300 μ m

Meningeosis leucaemica mit perivaskulärer Infiltration des Cortex.



Präparat Nr. 1012:

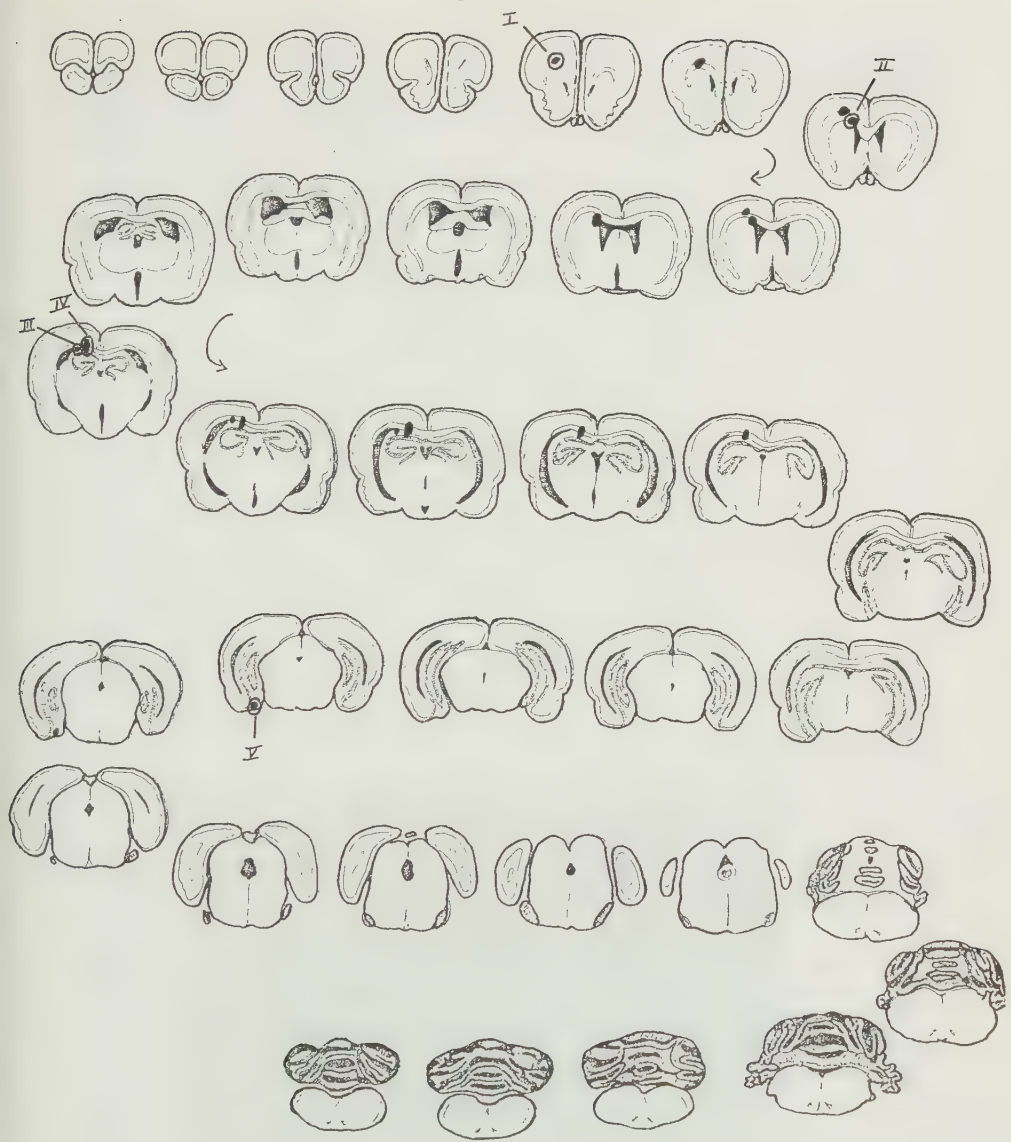
- I (24-35)/FNP₂: Frühstadium eines Mischglioms im Winkel zwischen Nucl. caudatus und Corpus callosum rechts; aus 2 Einzelfoci zusammenfließend. Zellulärer Aufbau aus Oligodendrozyten, Astrozyten und undifferenzierten Gliazellen (Zellen der SMZ ?).
Durchmesser: 1000 μm
 $J_M = 1,0\%$; $Z/F = 48/(100 \mu\text{m})^2$
- II (29-35)/Mik: Mikro-Mischgliom im Winkel zwischen Nucl. caudatus und Corpus callosum links (in symmetrischer Lokalisation zu I), histologischer Aufbau wie bei I.
Durchmesser: ca. 1000 μm
 $J_M = 1,4\%$; $Z/F = 120/(100 \mu\text{m})^2$
- III (29-33)/FNP₂: Blastomatöses Glia-Proliferat im Striatum, in Nachbarschaft zum linken Seitenventrikel. Deutliche periganglionäre Gruppierung der Oligodendrozyten-ähnlichen Zellen.
Durchmesser: 500 μm
 $J_M = 2,1\%$; $Z/F = 65/(100 \mu\text{m})^2$
- IV (110-113)/FNP₁: Präneoplastischer Fokus aus weitmaschig verteilten Oligodendrozyten in der Formatio reticularis links.
Durchmesser: 450 μm
 $J_M = 0$, $Z/F = 17/(100 \mu\text{m})^2$



Präparat Nr. 1013:

- I (22-33)/Mik: Mikro-Mischgliom (Oligodendrozyten, undifferenzierte Gliazellen) im rechten Corpus callosum, relativ geringe Zelldichte.
Durchmesser: 1400 μm
 $J_M = 1,8\%$; $Z/F = 30/(100 \mu\text{m})^2$
- II (29-38)/Mik: Mikro-Mischgliom im Winkel zwischen Nucl. caudat. und Corp. callos. rechts, gegen das Ventrikellumen sich vorwölbbend. Zellulärer Aufbau aus Oligodendrozyten, Astrozyten und undifferenzierten Zellen (der subependymalen Zellplatte?). Eng benachbart zu I, jedoch deutlich davon getrennt.
Durchmesser: 1000 μm
 $J_M = 0,6\%$; $Z/F = 60/(100 \mu\text{m})^2$
- III (42-53)/FNP₂: Kleines blastomatöses Proliferat gliogener Zellen im Balken oberhalb des rechten Hippocampus. Die weitmaschig verteilten Zellen erinnern an Oligodendrozyten, die Richtung ihrer weiteren Entwicklung ist offen.
Durchmesser: 800 μm
- IV (42-59)/FNP₂: Aus 2 Einzelherden konfluierendes Proliferat Oligodendroglia-ähnlicher Zellen im rechten Corp. callosum, in den Cortex infiltrierend. Eng benachbart zu III, jedoch ohne Kontakt mit diesem.
Länge: 1100 μm , Breite: 800 μm
- V (64-70)/FNP₃: Blastomatöses Oligodendrozyten-Proliferat im Cortex des rechten basalen Temporallappens.
Durchmesser: 500 μm

Anmerkung: Bei III - V war die Bestimmung des autoradiographischen Markierungsindex nicht möglich.



Präparat Nr. 1014:

- I (28-36)/Mik: Gliogener Mikrotumor (vorwiegend undifferenzierte Zellen der subependymalen Platte, vereinzelt Oligodendrozyten) am Fuß und an der Außenwand des linken Seitenventrikels; Beziehung zur subependymalen Matrixzone.

Länge: 1500 μm , Breite: 400 μm

$$J_M = 1,0\%; \quad Z/F = 65/(100 \mu\text{m})^2$$

- II (72-83)/Mik: Mikroglom am rechten Außenrand des Metencephalon (Oligodendrozyten-ähnliche Zellen). Hohe Zelldichte im Vergleich zum Gesamtdurchmesser.

Durchmesser: 1000 μm

$$J_M = 0; \quad Z/F = 128/(100 \mu\text{m})^2$$

Trotz seiner relativ großen Zelldichte (Abb. 24) zeigt dieser Mikrotumor erstaunlicherweise in keinem autoradiographischen Schnitt-Präparat eine Markierung.

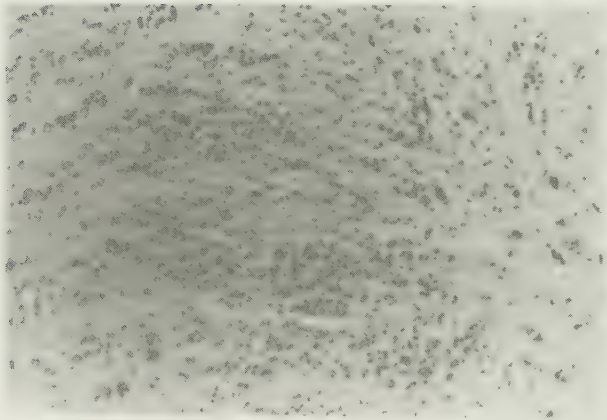
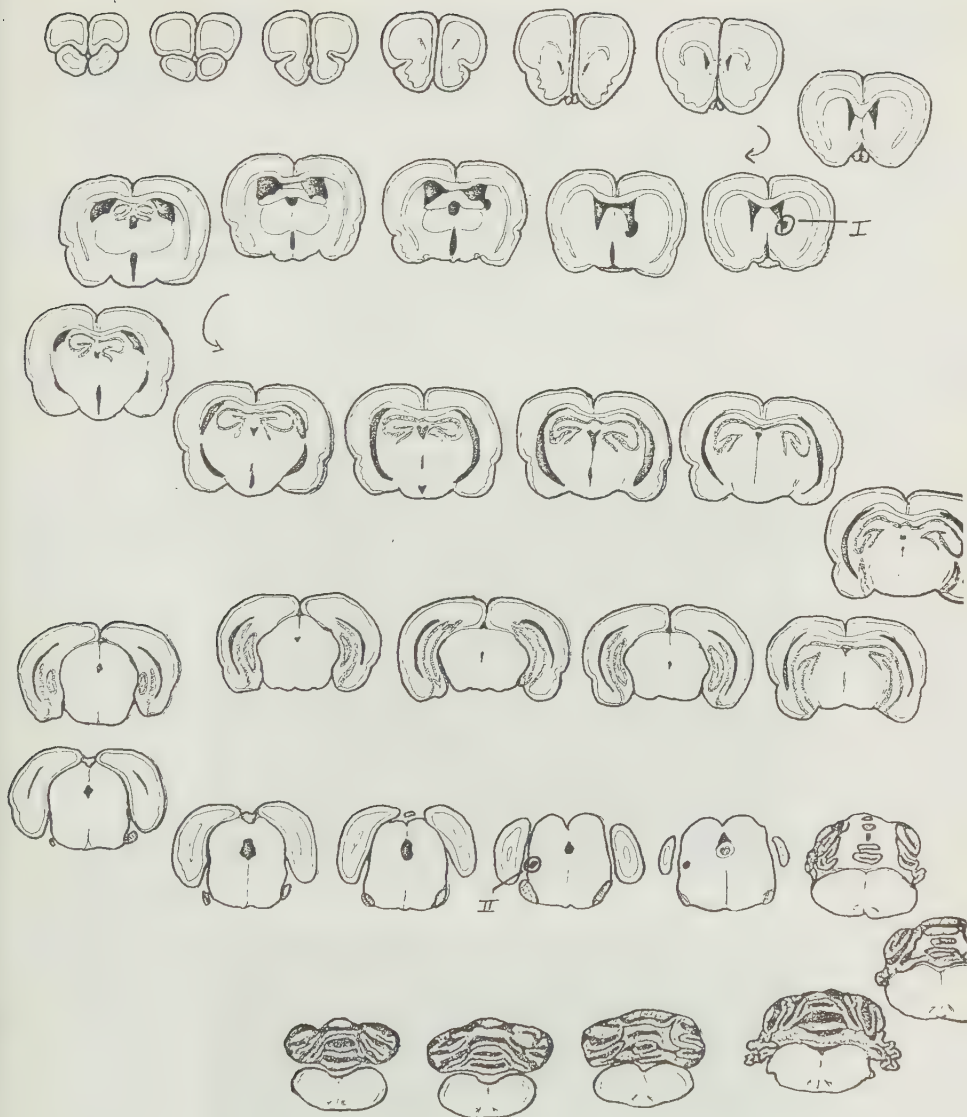


Abb. 24



Präparat Nr. 1015:

- I (16-17)/FNP₁: Kleinster präneoplastischer Oligodendroglia-Fokus im Cortex der Fissura rhinalis links. Reine periganglionäre Satellitose.
Durchmesser: 400 μm
 $J_M = 0$; $Z/F = 60/(100 \mu\text{m})^2$
- II (29-42)/Mik: Zellreicher gliogener Mikro-Mischtumor im subkortikalen Marklager am Außenrand des rechten Seitenventrikels. Unterschiedlich differenziertes, vorwiegend astrozytäres Zellbild mit Malignitätszeichen. Im Tumorzentrum 2 Geschwulstareale erhöhter Zelldichte und verstärkter Mitoseaktivität (deutlich größerer autoradiographischer Markierungsindex). Möglicherweise handelt es sich hierbei um "Proliferationszentren" (Abb. 25a₁ b₁).
- III (31-35)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Fokus Oligodendrozyten-ähnlicher Zellen am Unterrand des rechten Thalamus.
Durchmesser: 600 μm
 $J_M = 1,5\%$; $Z/F = 95/(100 \mu\text{m})^2$
- IV (38-47)/Mik: Mikro-Mischgliom im Marklager am Außenrand des rechten Seitenventrikels; eng benachbart zu II, jedoch nicht mit diesem konfluierend (histologisch identisch).
Durchmesser: 1300 μm
 $J_M = 1,7\%$; $Z/F = 55/(100 \mu\text{m})^2$
- V (45-46)/FNP₂: Kleinstes gliöses Proliferat im rechten Tapetum, geringe Vermehrung Astrozyten-ähnlicher Zellen zwischen den Fasern des subkortikalen Marklagers (interfaszikuläre Hyperplasie). Der blastomatöse Fokus ist als solcher lediglich an einer Auflockerung und "Metachromasie" der Grundsubstanz zu erkennen. Es handelt sich wahrscheinlich um das Randgebiet eines größeren Proliferats, dessen weitere Ausdehnung jedoch nicht mehr erfaßt wurde.
- VI (45-48)/FNP₂: Aus 2 Einzelherden konfluierendes blastomatöses Proliferat im subkortikalen Marklager oberhalb des linken Hippocampus. Weitmaschiger Aufbau aus verschiedenen Gliazelltypen (Astrozyten- u. Oligodendrozyten-artige Zellen).
Länge: 1300 μm , Breite: 800 μm
 $J_M = 2,4\%$; $Z/F = 10/(100 \mu\text{m})^2$

VII (69-74)/FNP₂: Kleiner blastomatöser Oligodendroglioma-Fokus links paramedian in der Med. oblong.; relativ zelldicht, trotzdem ohne Hinweis auf Teilungsaktivität.

Durchmesser: 400 μm

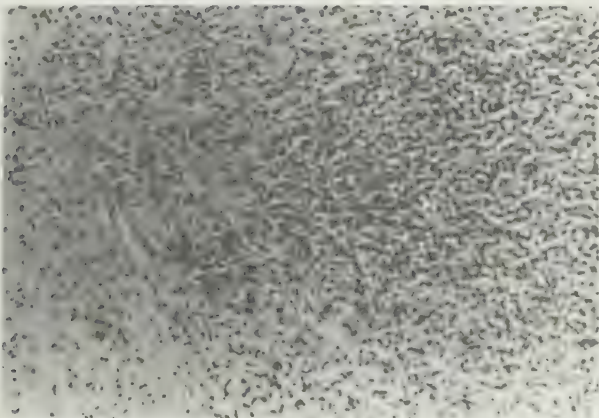
$$J_M = 0; \quad Z/F = 46/(100 \mu\text{m})^2$$

VIII (87-93)/Mik: Zellreicher Tumor in der dorsalen Med. oblongata am rechten Seitenrand des 4. Ventrikels; synzytial-verknüpfte Zellen mit großem, blassem Kern. - Astrozytom.

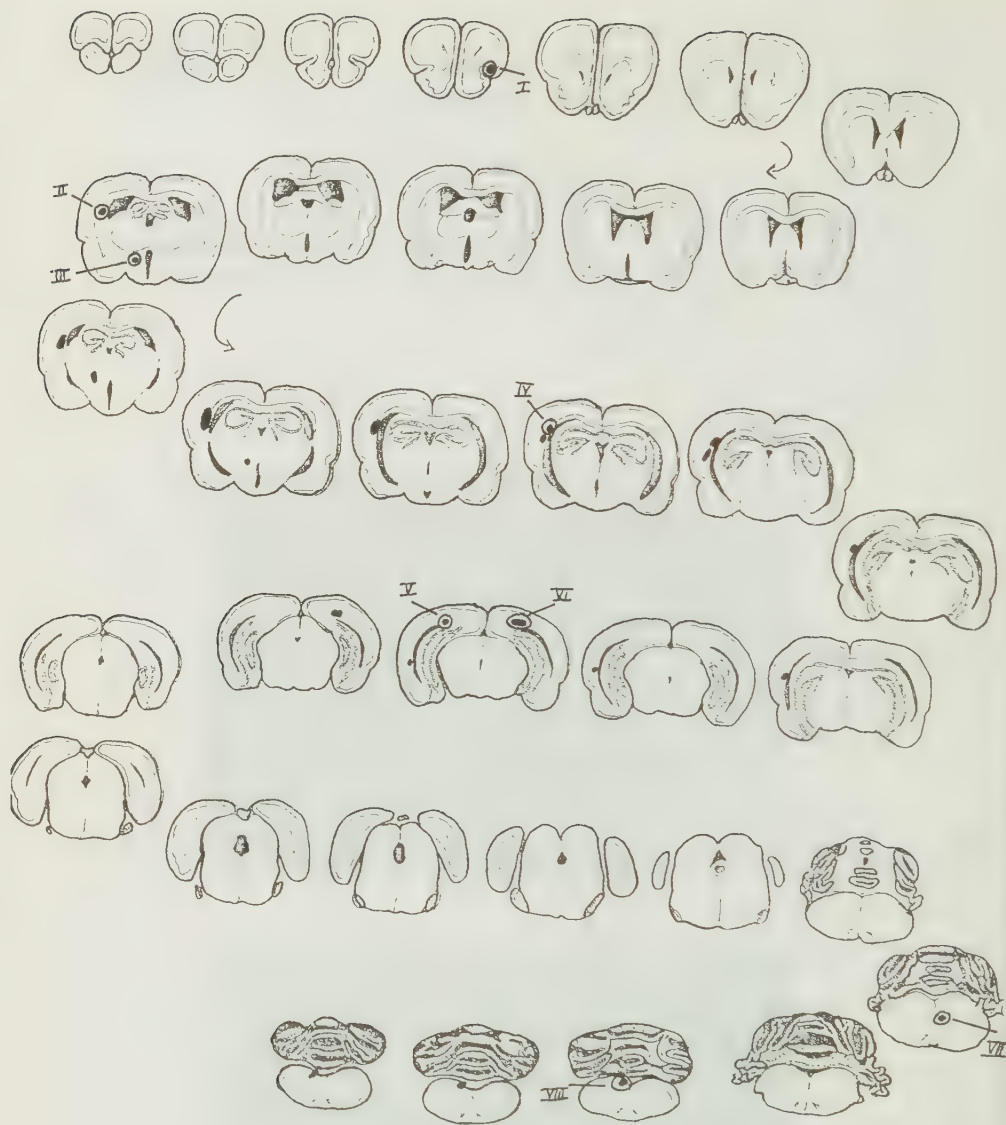
$$J_M = 0,38\%; \quad Z/F = 125/(100 \mu\text{m})^2$$



Abb. 25a,

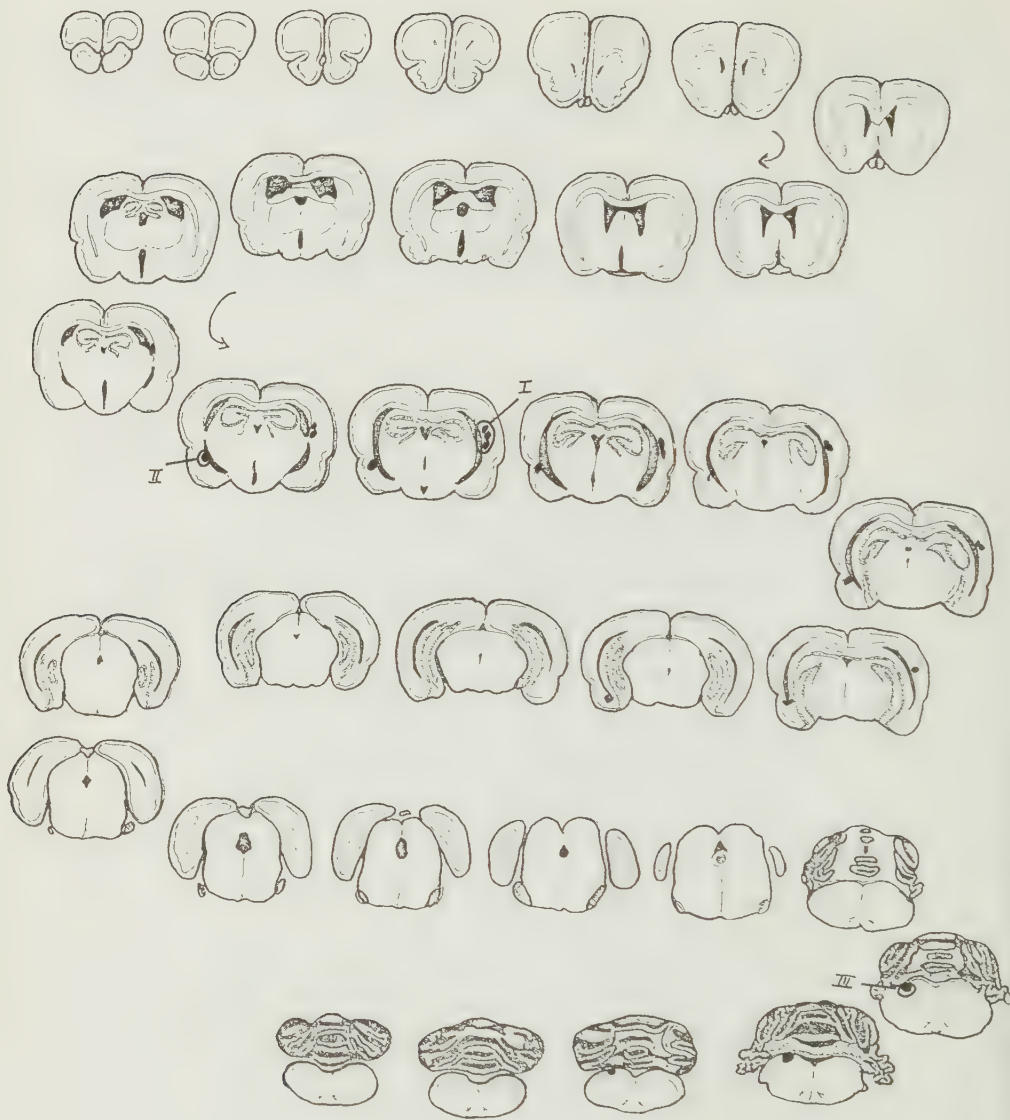


b,



Präparat Nr. 1017:

- I (50-63)/Mik: Aus 3 Einzelherden konfluierendes Mikroglom am Außenrand des linken Seitenventrikels in Höhe der Fimbria hippocampi, teilweise auf den Hippocampus übergreifend. Gemischt-zelliger Aufbau aus Oligodendrozyten, Astrozyten und einem 3. Zelltyp mit größeren, chromatinärmeren Kernen und hoher Kern-Plasma-Relation (undifferenzierte Zellen der SMZ ?); Gefäßreichum.
Länge: 2200 μm , Breite: 1100 μm
- II (52-66)/Mik: Mikroglom im subkortikalen Marklager am Fuß des rechten Seitenventrikels, teilweise in den Hippocampus infiltrierend; isomorphes Proliferat dicht stehender, Oligodendrozyten-ähnlicher Zellen. In den peripheren Tumoranteilen deutliche Satellitose.
Durchmesser: 1600 μm
- III(105-110)/FNP₂: Blastomatöses Proliferat Astrozyten-artiger Zellen in der dorsalen Med. oblong. rechts, unterhalb des Bodens des 4. Ventrikels.
Durchmesser: 600 μm

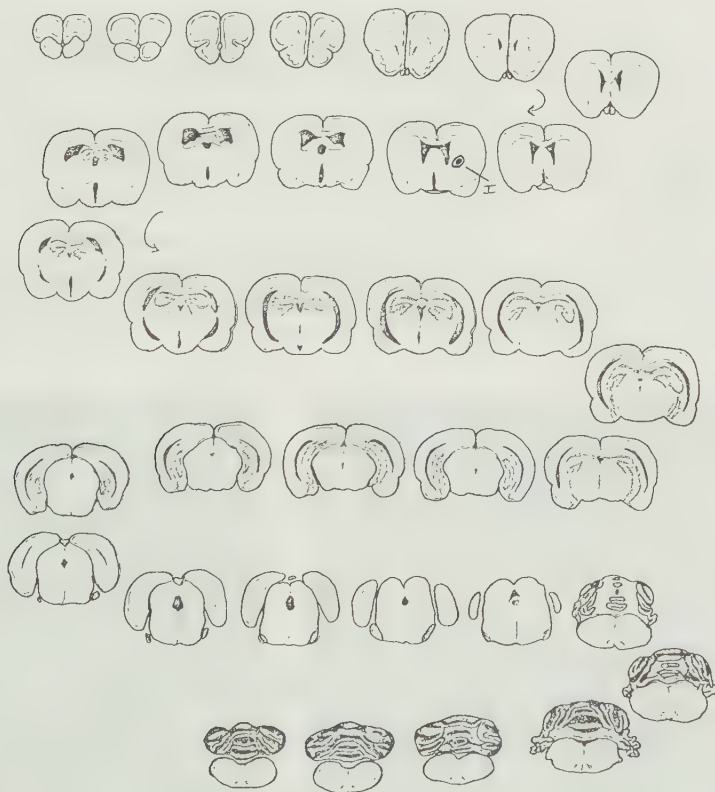


Präparat Nr. 1018:

I (39-41)/FNP₁: Kleinster blastomatöser Oligodendroglioma-Fokus
in st. nasc. im linken Nucl. caudatus.

Durchmesser: 400 μ m

Bei diesem Tier fanden sich außerdem ein großer Trigeminstumor und
eine Sarkomatose der Meningen. Auf beide Neoplasmen wird in einem
späteren Kapitel näher eingegangen (s.S.167 u.169).



Präp.-Nr.: 1018

Präparat Nr. 1019:

- I (84-88)/FNP₁: Kleinster oligodendrogliomatöser Fokus in St. nasc. im Hirnstamm rechts paramedian; weitmaschig verteilte, gruppiert stehende Oligodendrozyten; "Metachromasie" und Auffaserung der Grundsubstanz als auffallendstes Merkmal der frühen neoplastischen Veränderung.
Durchmesser: 350 μ m
- II (117-126)/FNP₂: Weitmaschiges Proliferat Astrozyten-ähnlicher Zellen in der Basis der Med. oblong. rechts.
Durchmesser: 700 μ m
- M (76-78): Intraventrikuläre Metastase, vermutlich gleichen Ursprungs wie die unten beschriebene Meningeosis gliomatosa.

Zell- und gefäßreiche, pleomorphe Meningeosis gliomatosa am kraniozervikalen Übergang. Der gliogene Primärtumor findet sich nicht im Gehirn, vermutlich ist er im RM lokalisiert. Die blastomatöse Infiltration der Meningen setzt sich nach spinal bis in den Lumbalbereich fort (s.S.166). Eine deutliche Erweiterung der inneren Liquorräume weist auf die geschwulstbedingte Behinderung des Liquorabflusses im Bereich des 4.Ventrikels hin (Abb. 26).

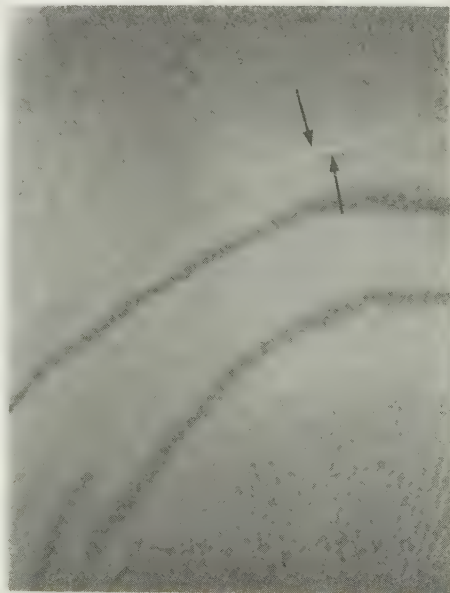
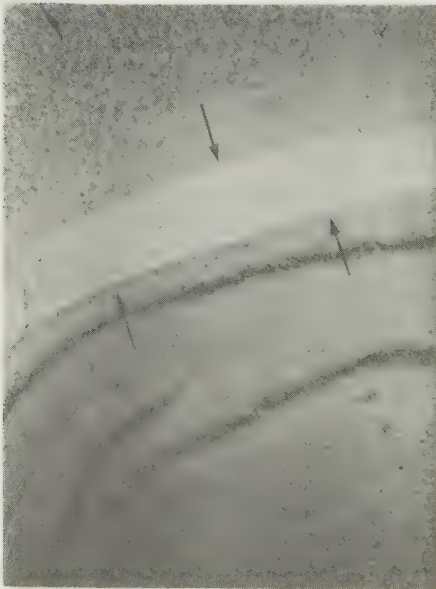
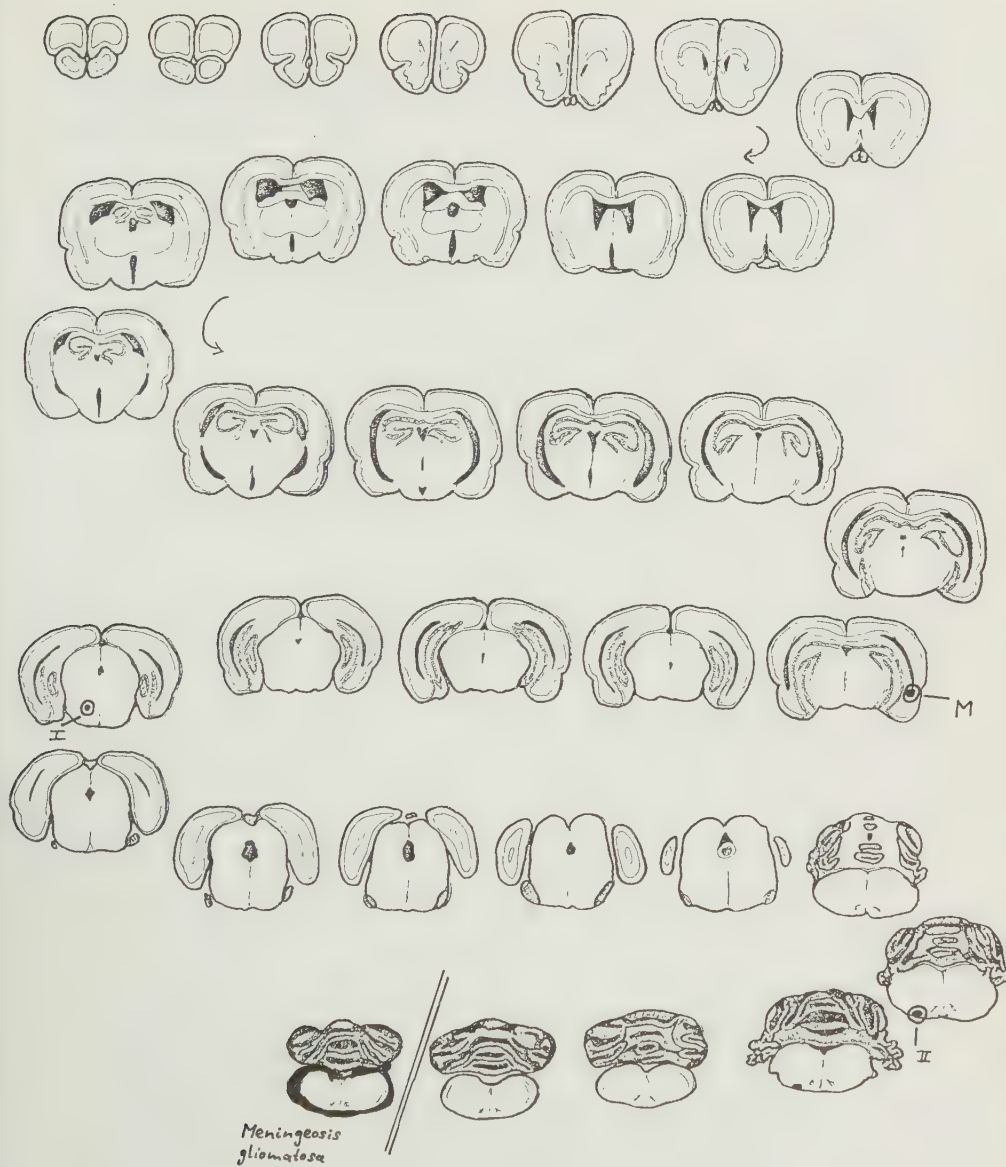


Abb. 26

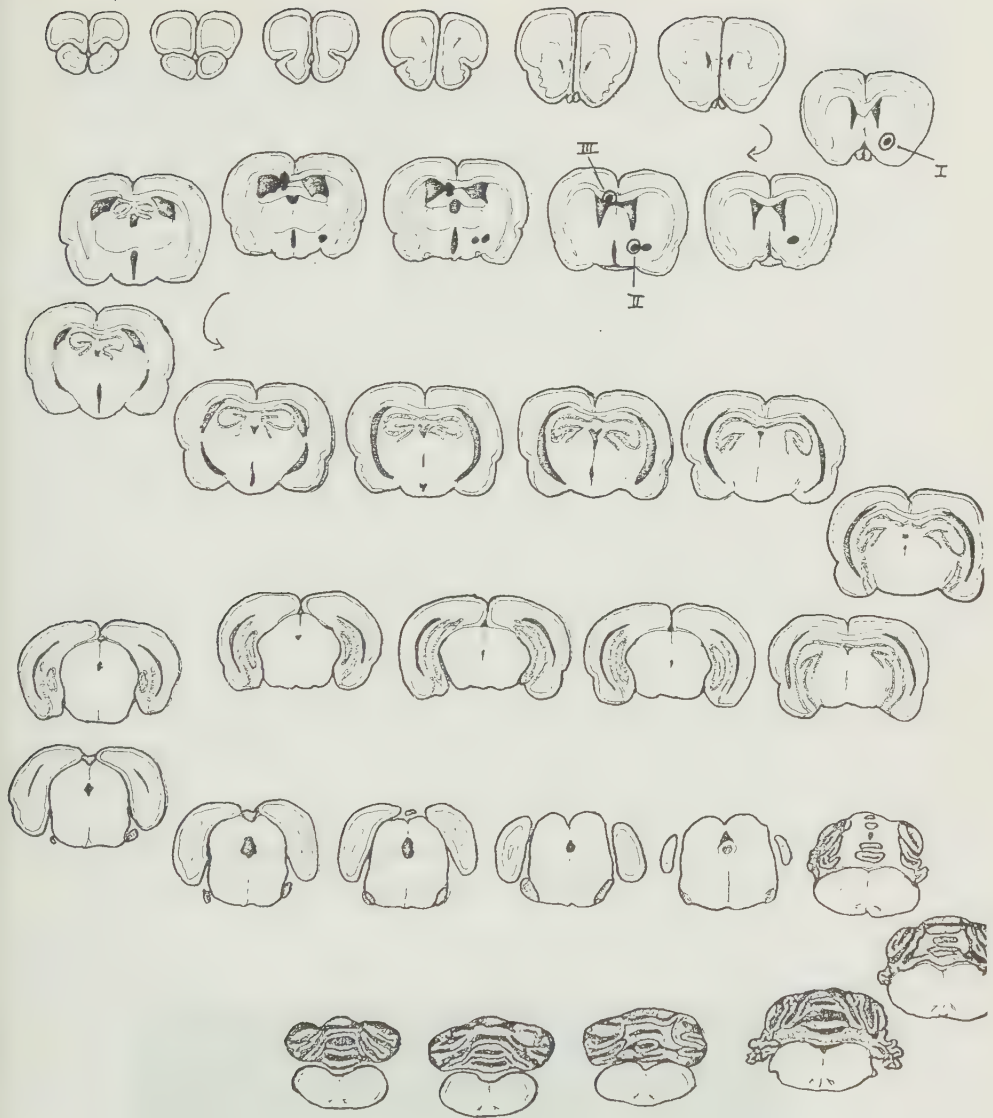
zum Vergleich: normale Ventrikelweite



Präparat Nr. 1020:

- I (38-51)/Mik: Oligodendrogliomatöser Mikrotumor am Unterrand der Commissura anterior links, aus 2 Herden konfluierend; isomorph, relativ zell dicht, interfascikuläre Hyperplasie.
Länge: 1700 μm , Breite: 600 μm
- II (47-55)/FNP₂: Kleines blastomatöses Oligodendroglia-Proliferat in enger Nachbarschaft zu I, jedoch deutlich davon getrennt; zell dicht, histologisch identisch mit I.
Durchmesser: 350 μm
- III (50-67)/FNP₂: Tumöröses Glia-Zellproliferat im Corpus callosum rechts paramedian, auf Fornix und Fimbria hippocampi übergreifend. Gemischtzelliger Aufbau aus Astrozyten und Oligodendrozyten; vereinzelt auch Zellen, wie sie in der subependymalen Platte anzutreffen sind.
Durchmesser: 900 μm

Bei diesem Tier fanden sich außerdem 2 Neurofibrosarkome, ausgehend von beiden Nn. trigemini. - Nähere Beschreibung siehe Kap. D/III 1), S.168.



Präparat Nr. 1021:

- I (52-76)/Mik: Isomorphes Mikromischgliom am Außenrand des rechten Seitenventrikels. Relativ geringe Zelldichte, 3 verschiedene zelluläre Komponenten (Oligodendrozyten, Astrozyten, Zellen der subependymalen Platte). Durchmesser: 1800 μm
- II (63-100)/Mak: Isomorphes Oligodendrogliom im Marklager des linken Temporallappens, von hoher Zelldichte und ausgeprägter "Metachromasie" der Grundsubstanz. Teilweise aus 2 Geschwulstfeldern mit unterschiedlicher Zelldichte bestehend; an der Tumorperipherie deutliche interfazikuläre Hyperplasie. - Abb. 27. Durchmesser: 2000 μm
- III (69-78)/FNP₂: Blastomatöses Proliferat Astrozyten-artiger Zellen in der linken Fimbria hippocampi; isomorph, weitmaschig. Durchmesser: 700 μm
- IV (97-111)/Mik: Mikroglom im linken Hippocampus; zell dicht, Beziehung zur Fissura hippocampi. Oligodendrogliom- u. Ependymom-artige Anteile. Durchmesser: 1200 μm
- V (102-111)/FNP₂: Kleineres blastomatöses Proliferat im linken Hippocampus; eng benachbart zu IV, deutlich davon getrennt. Histologisch wie IV. Durchmesser: 600 μm
- VI (103-113)/FNP₂: Zellreiches Gliaproliferat im subkortikalen Marklager außerhalb des linken Hippocampus; histologisch wie IV u. V. Durchmesser: 650 μm

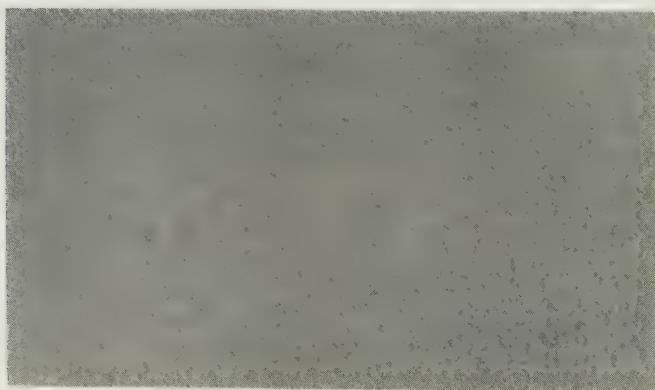
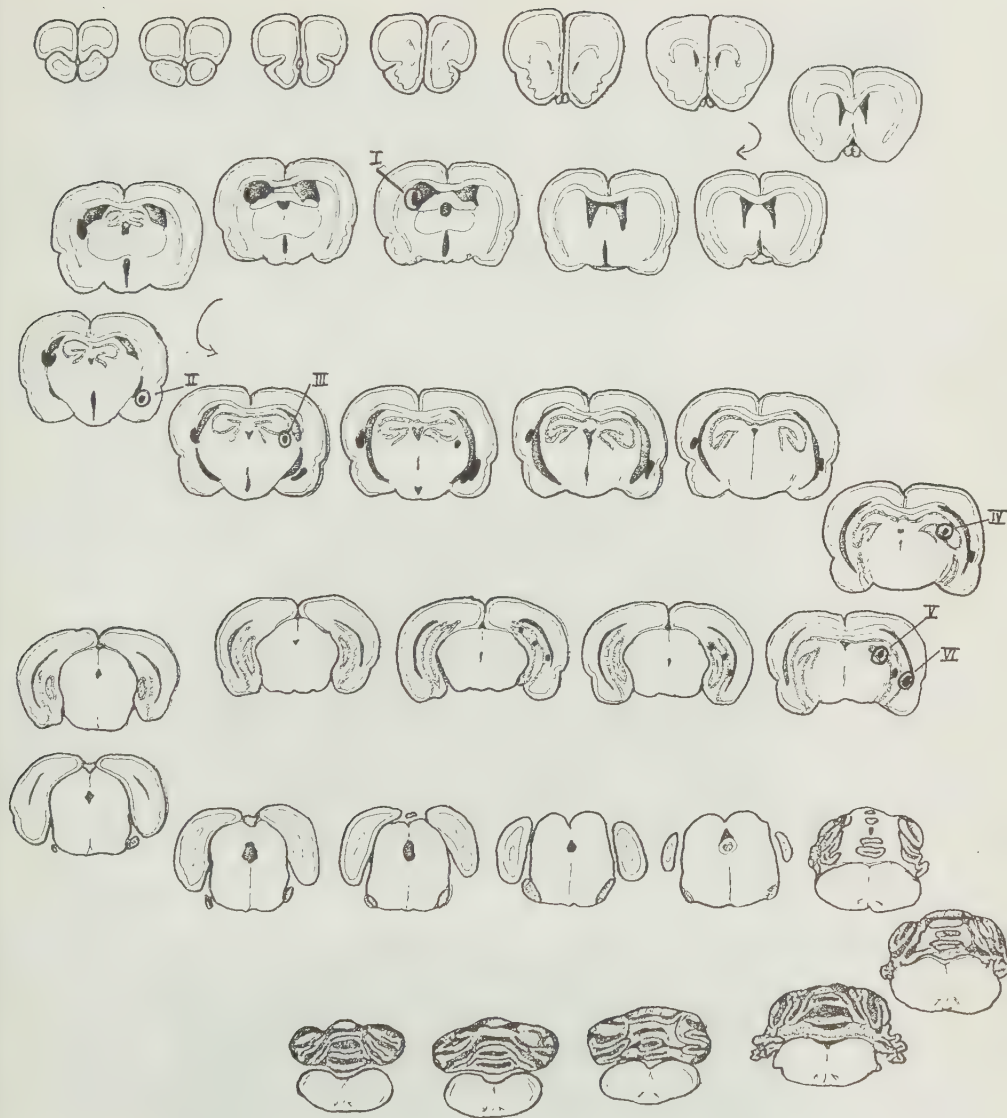


Abb. 27



Präparat Nr. 1022:

- I (10-46)/Mak: Pleomorphes Mischgliom mit den Zeichen der malignen Entartung (Glioblastom) in der rechten Hemisphäre, unter Verlagerung der Mittelstrukturen in den Balken zur Gegenseite infiltrierend (Abb. 28a). Das Geschwulstzentrum ist im Balken oberhalb der Stammganglien zu vermuten. Im Zentrum hohe Zelldichte, Mitose- und Gefäßreichtum, Nekrosen und Einblutungen; Riesenzellen, Kapillarwucherungen, perivaskuläre sarkomartige Zellproliferationen (Abb. 28b) und girlandenförmige Riesenzell-Wucherungen; in den Randgebieten periganglionäre Satellitose isomorpher Oligodendrozyten. Durchmesser: 4700 μm
- II (18-30)/Mik: Zellreiches, pleomorphes Oligodendrogliom im Cortex außerhalb der Capsula externa; in enger Nachbarschaft zu I, jedoch deutlich davon getrennt. Satellitose am Außenrand. Durchmesser: 1400 μm
- III (28-41)/Mik: Optikus-Gliom im Chiasmabereich, entlang dem Tractus opticus in das Zwischenhirn infiltrierend. Aufbau aus 2 unterschiedlichen, höher differenzierten Zellkomponenten: teils synzytial-verknüpfte Zellen (Astrozyten ?) teils "Honigwaben"-Struktur (wie bei Oligodendrogliom).
- IV (32-39)/FNP₂: Blastomatöses Gliaproliferat im Cortex außerhalb der Capsula externa; histologisch wie II und zu diesem eng benachbart. Durchmesser: 750 μm
- V (37-39)/Mik: Mikroglom am Außenrand des linken Seitenventrikels, ausgehend von der an dieser Stelle verdickten subependymalen Zellschicht und in die angrenzenden Stammganglien infiltrierend. Zellulärer Aufbau aus oligodendrozytärer u. astrozytärer Komponente sowie undifferenzierter Gliazellen (ähnlich den Zellen der subependymalen Matrixzone). Durchmesser: 900 μm

VI (48-53)/FNP₂: Scharf abgegrenztes, zellreiches Glia-Proliferat im linken Hypothalamus; Zellen mit hellem, schmalem Zytoplasmasaum und deutlichem Kernkörperchen - wie bei Oligodendrozyten - jedoch weniger chromatindichter Kern.

Durchmesser: 650 μ m

VII (81-85)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Oligodendrogliaproliferat in st. nasc. am Außenrand des linken Hirnstamms.

Durchmesser: 500 μ m

Zu I: Bei diesem Tumor handelt es sich um die einzige intrazerebrale Geschwulst mit r a u m f o r d e r n d e r Ausdehnung (Kompression des Seitenventrikels, Verlagerung der Mittelstrukturen zur Gegenseite).

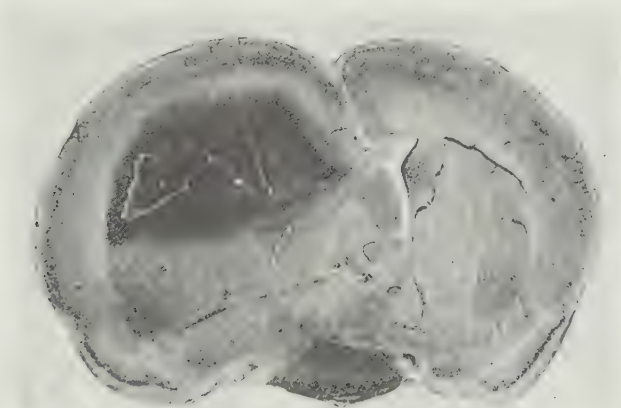
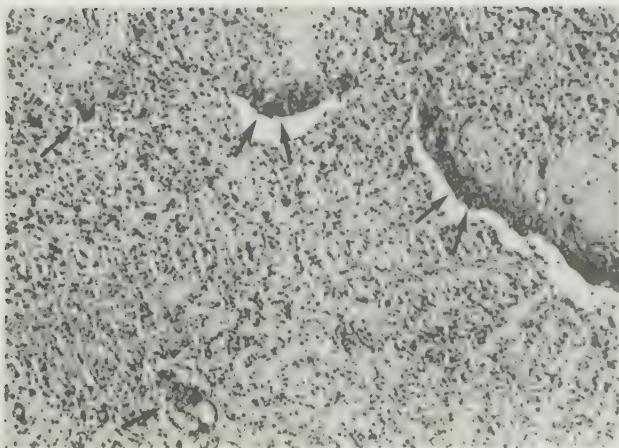
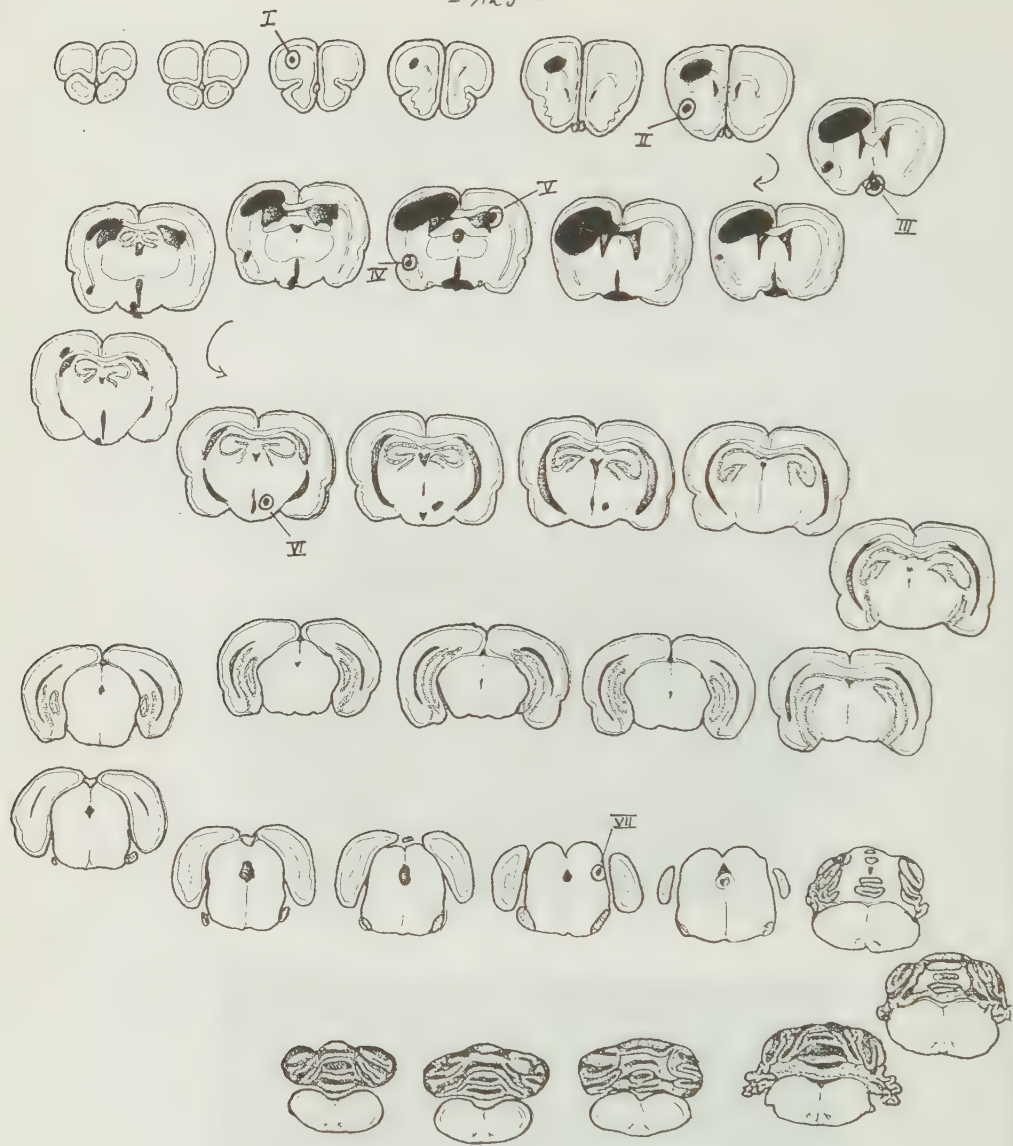


Abb. 28 a,

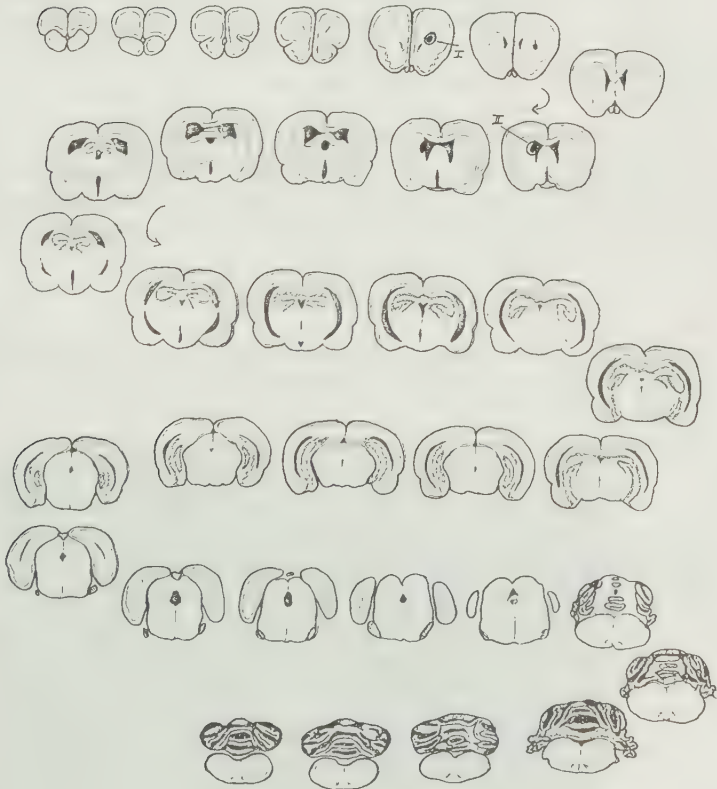


b,



Präparat Nr. 1023:

- I (18-19)/FNP₁: Fraglich blastomatöses Proliferat spindelförmiger, wirbelartig angeordneter Zellen im linken Striatum; deutliche Eosinfärbung der Interzellulärsubstanz.
- II (37-44)/Mik: Pleomorphes Mikro-Mischgliom am Außenrand des rechten Seitenventrikels, ausgehend von der subependymalen Matrixzone. Aufgebaut aus astrozytären und oligodendrozytären Elementen sowie aus einem nicht eindeutig zuzuordnenden Zelltyp, möglicherweise den Zellen der SMZ entsprechend.
Länge: 1900 µm, Breite: 700 µm



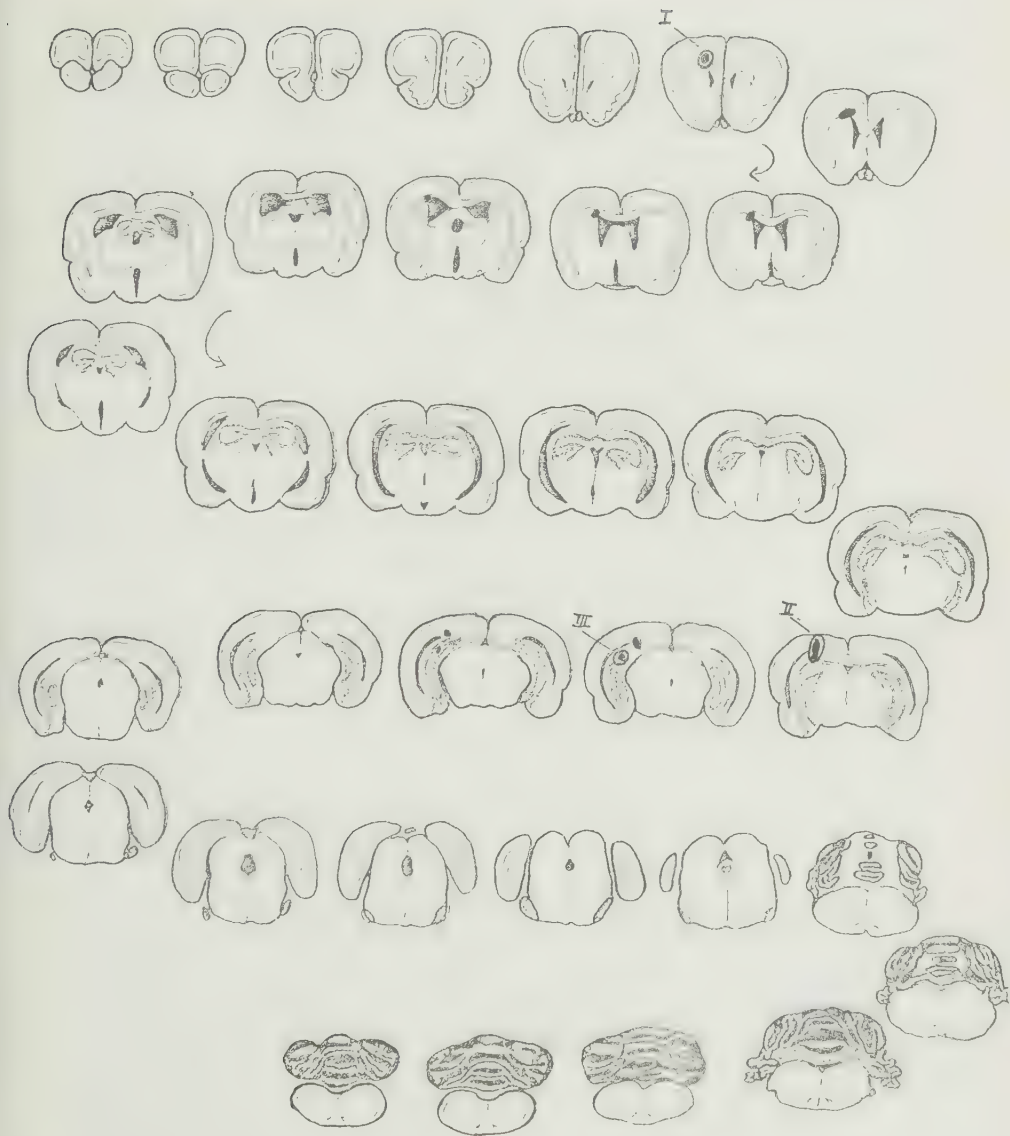
Präparat Nr. 1024:

- I (20-43) Mik: Weitmaschiges glißses Tumorpholiferat im Winkel zwischen Corpus callosum und Nucl. caudatus rechts; heteromorpher Aufbau aus Astrozyten, Oligodendrozyten und Zellen der SMZ (?). Ausgehend von der Seitenventrikel-Umschlagsfalte findet sich in den zentralen Proliferatanteilen ein zelldichter Mikro-Ependymom (Abb. 29).
Durchmesser insgesamt: ca. 1500 μm
Durchmesser Ependymom: ca. 500 μm
- II (75-84) FNP₂: Blastomatöse Proliferation von Oligodendrozyten und etwas größeren Zellen mit hellerem Kerngerüst im rechten Tapetum, auf Cortex und Hippocampus übergreifend; weitflächig, in Cortex u. Hippocampus vorwiegend als Satellitose.
Durchmesser: 1300 μm
- III (76-80) FNP₁: Kleinster praeneoplastischer Fokus in der Fissura hippocampi rechts, aus gruppiert stehenden, nur gering vermehrten Oligodendrozyten. Blastomatöse Natur v.a. erkennbar an Auflockerung und "Metachromasie" der Grundsubstanz.
Durchmesser: 250 μm

Der ausgedehnte, nach extrakraniell durchgebrochene Meningealtumor wird in einem späteren Kapitel genauer beschrieben (s.S. 169).



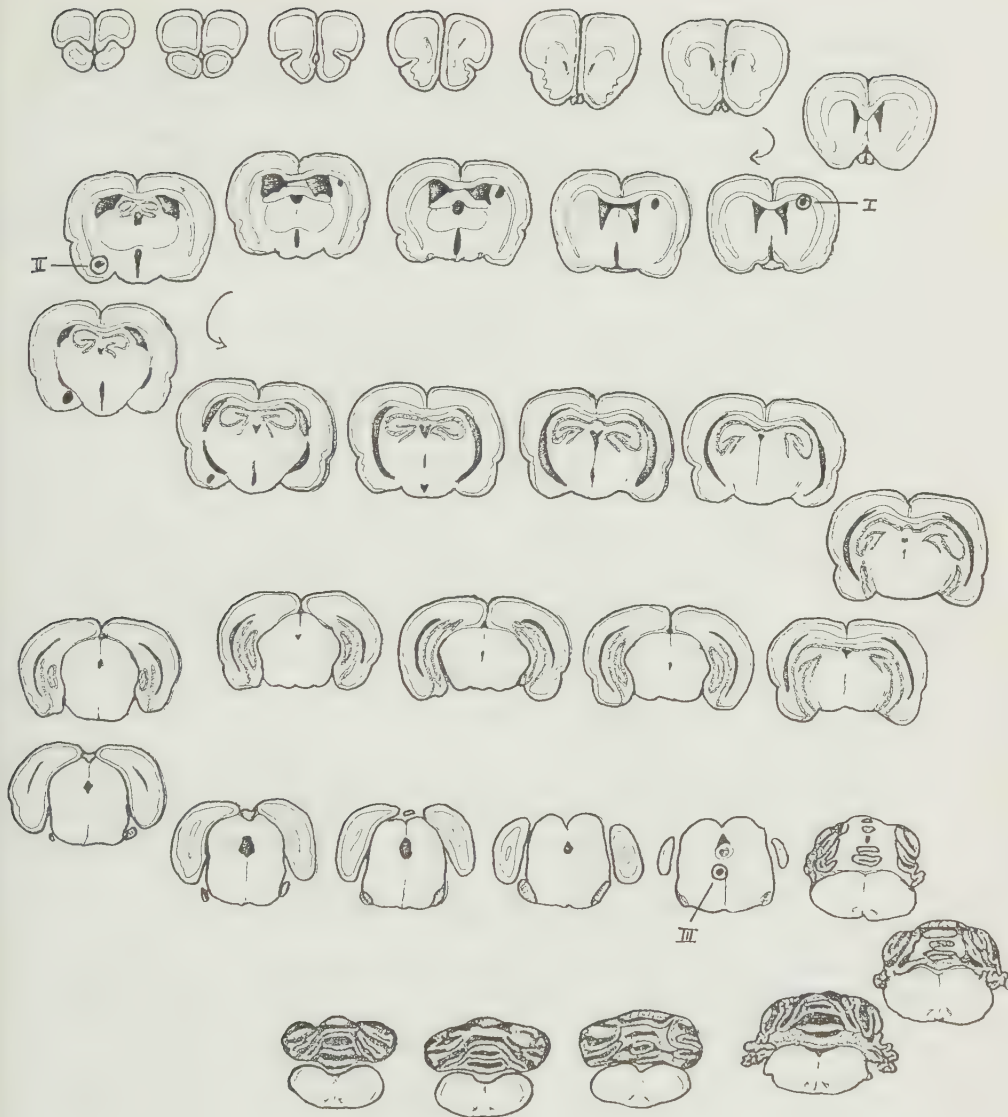
Abb. 29



Präparat Nr. 1025:

- I (42-55)/Mik: Mikro-Mischgliom (Astrozyten/Oligodendrozyten) im oberen Randgebiet des linken Striatum.
Durchmesser: 1500 μm
- II (77-84)/Mik: Zelldichter, scharf abgegrenzter Mikrotumor gliösen Ursprungs im basalen Cortex des rechten Temporal-lappens. Oligodendrozyten-ähnliche Zellen mit schmalem Zytoplasmasaum, chromatinreichem Kern und deutlichem Nukleolus; jedoch etwas größer als Oligodendrozyten. Gewebsbild teilweise wie bei Ependymom.
Durchmesser: 1100 μm
- III (124-129)/FNP₁: Kleinstes blastomatöses Oligodendrozyten-Proliferat in st. nasc., rechts paramedian unterhalb des Aquaeduktes. Fast nur identifizierbar an der Auflockerung und rötlichen Einfärbung der Grundsubstanz.
Durchmesser: 400 μm

Bei diesem Tier fand sich außerdem ein großer Abszeß, welcher sich komprimierend von der temporalen Basis gegen die linke Hemisphäre vorwölbte (genauere Beschreibung s.S. 172).

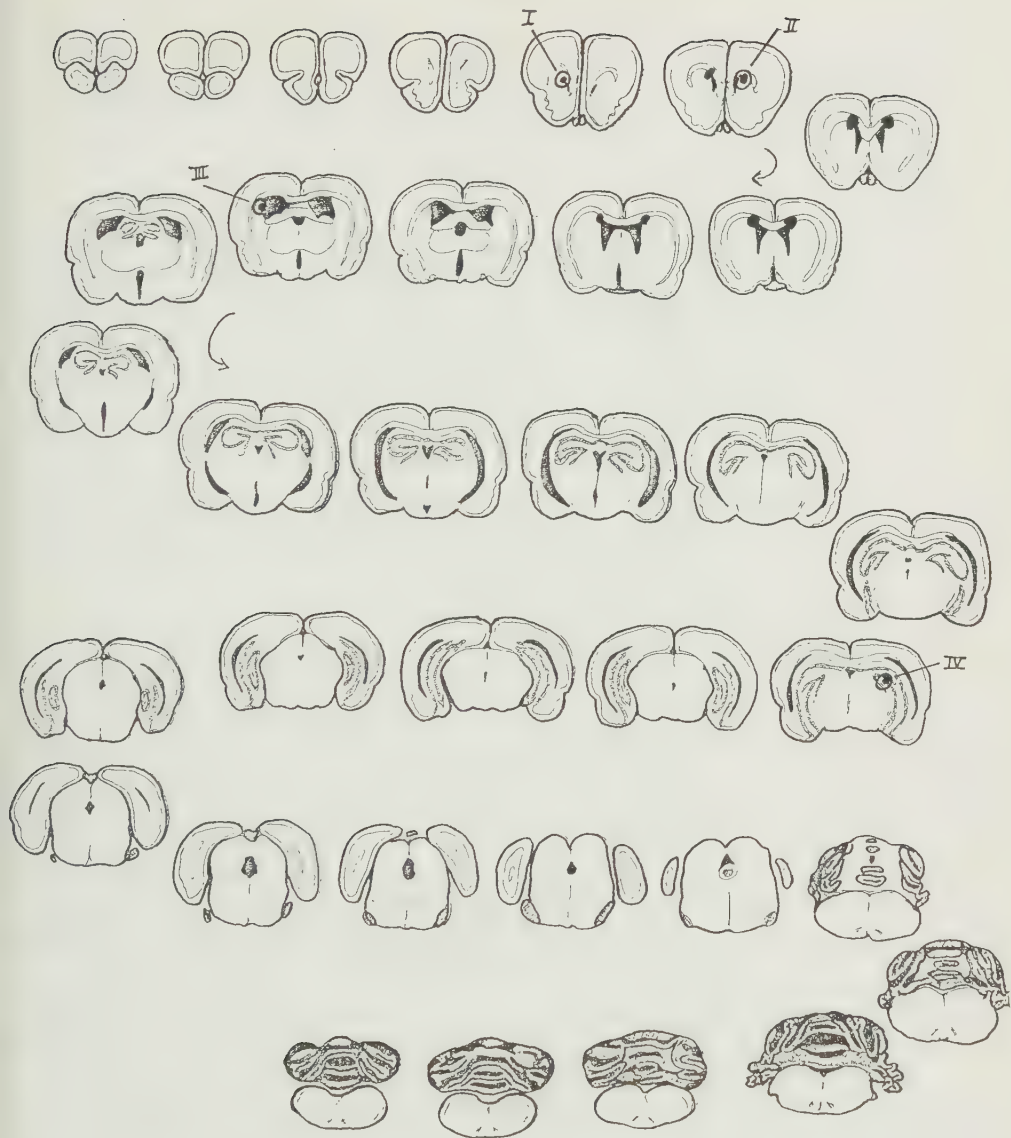


Präparat Nr. 1026:

- I (35-48)/Mik: Pleomorphes Mikroglom im Winkel zwischen Corpus callosum u. Nucl. caudatus am Oberrand des rechten Seitenventrikels. Hohe Zelldichte, zahlreiche kapilläre Blutgefäße, polymorphes Zellbild (Oligodendro- u. astrozytäre Elemente, Zellen der SMZ; Zellnekrosen; Mitosereichtum).
Durchmesser: 1200 μm
- II (36-57)/Mik: Pleomorphes Mikroglom am Oberrand des linken Seitenventrikels, in symmetrischer Lokalisation zu I, auch histologisch weitgehend diesem entsprechend; etwas geringere Zelldichte; Satellitose u. interfazikuläre Hyperplasie in den Randgebieten.
Durchmesser: 1400 μm
- III (57-58)FNP₁: Kleinstes blastomatöses Proliferat in st. nasc. am lateralen Außenrand des rechten Seitenventrikels; bestehend aus wenigen Gruppen dicht beieinanderliegender SMZ-Zellen, um Ganglienzellen des angrenzenden Striatum herumgelagert.
Durchmesser: 200 μm
- IV (94-95)/FNP₁: Kleinstes Proliferat Oligodendrozyten-ähnlicher Zellen in der linken Fissura hippocampi; geringe Zellvermehrung in schwach "metachromatischer" Grundsubstanz.
Durchmesser: 300 μm (weitmaschig !)

Bei diesem Tier fanden sich außerdem multiple Abszeßknoten im Bereich der rechten Hemisphäre (s.S. 172).

- 133' -



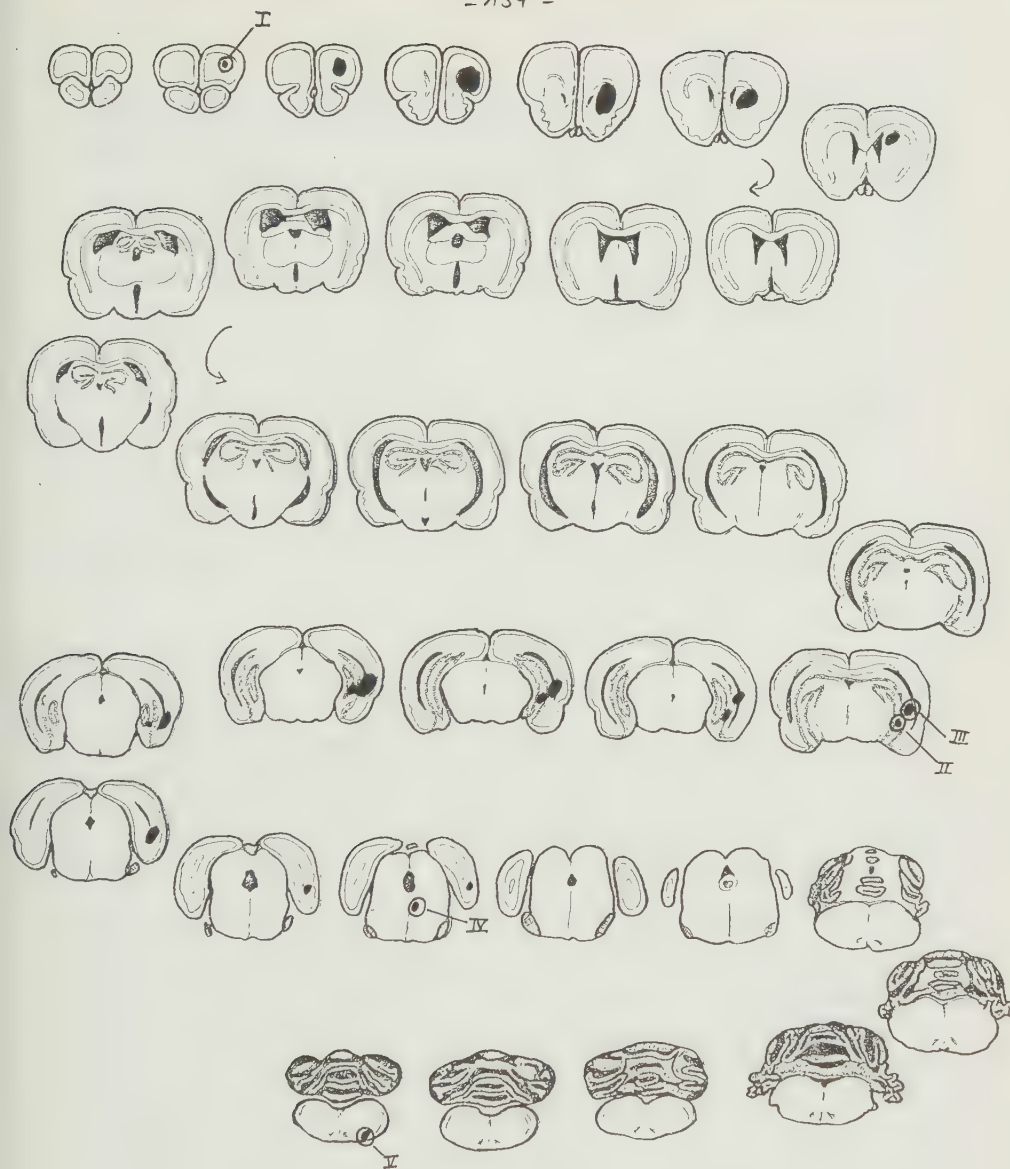
Präp.-Nr.: 1026

Präparat Nr. 1027:

Kein Nachweis eines blastomatösen Proliferats.

Präparat Nr. 1028:

- I (12-42)/Mak: Mischgliom im linken Striatum, in den Balken infiltrierend und teilweise zur Gegenseite hinüberwachsend. Überwiegend heteromorpher Aufbau aus Astrozyten, Oligodendrozyten und Oligodendrozyten-ähnlichen Zellen. Ependymomartiges Proliferationszentrum mit kleineren, chromatindichteren Zellkernen; Pleomorphie, Mitosereichtum; zentrale Nekrose. - Wie bei Glioblastom. Durchmesser: 2500 μ m
- II (87-103)/Mik: Gliogener Misch tumor in der linken Fissura hippocampi: Astrozyten und Oligodendrozyten, teilweise mit den Zeichen der Entdifferenzierung. Länge: 2000 μ m, Breite: 1000 μ m
- III (88-112)/Mak: Pleomorphes Misch gliom (Astrozyten/Oligodendrozyten) im subkortikalen Marklager am Außenrand des linken Hippocampus; aus 2-3 Einzelherden zu einem großen Geschwulstfeld konfluierend. Zelldichtes Proliferationszentrum mit zahlreichen Mitosen, Kern- und Zellpolymorphie, Kapillarreichtum und vereinzelt Riesenzellen (Abb.30a). In den äußeren Geschwulstanteilen finden sich isomorphe Oligodendrogliom-Bezirke mit periganglionärer Satellitose (im angrenzenden Cortex) und interfazikulärer Hyperplasie (im subkortikalen Marklager). Länge: 3000 μ m (durch Konfluenz), Breite: 1800 μ m
- IV (110-116)/FNP₁: Kleiner blastomatöser Fokus in st.nasc. im Hirnstamm links paramedian, unterhalb des Aquaeduktes. Oligodendrozyten-ähnliche Zellen mit schmalem Plasmasaum und deutlichem Kernkörperchen; jedoch hellerer Kern und größerer Zelldurchmesser als bei Oligodendrozyten. Durchmesser: 400 μ m
- V (164)/FNP₁: Frühe neoplastische Proliferation in st.nascendi: weitmaschige Verteilung (s.u.Durchmesser !) gruppierter Oligodendrozyten zwischen den Ganglienzellen und Neuriten des Kerngebietes in der ventro-lateralen Med.oblong.(Abb.30b). Auflockerung und "Metachromasie" der Grundsubstanz. Durchmesser: 600 μ m



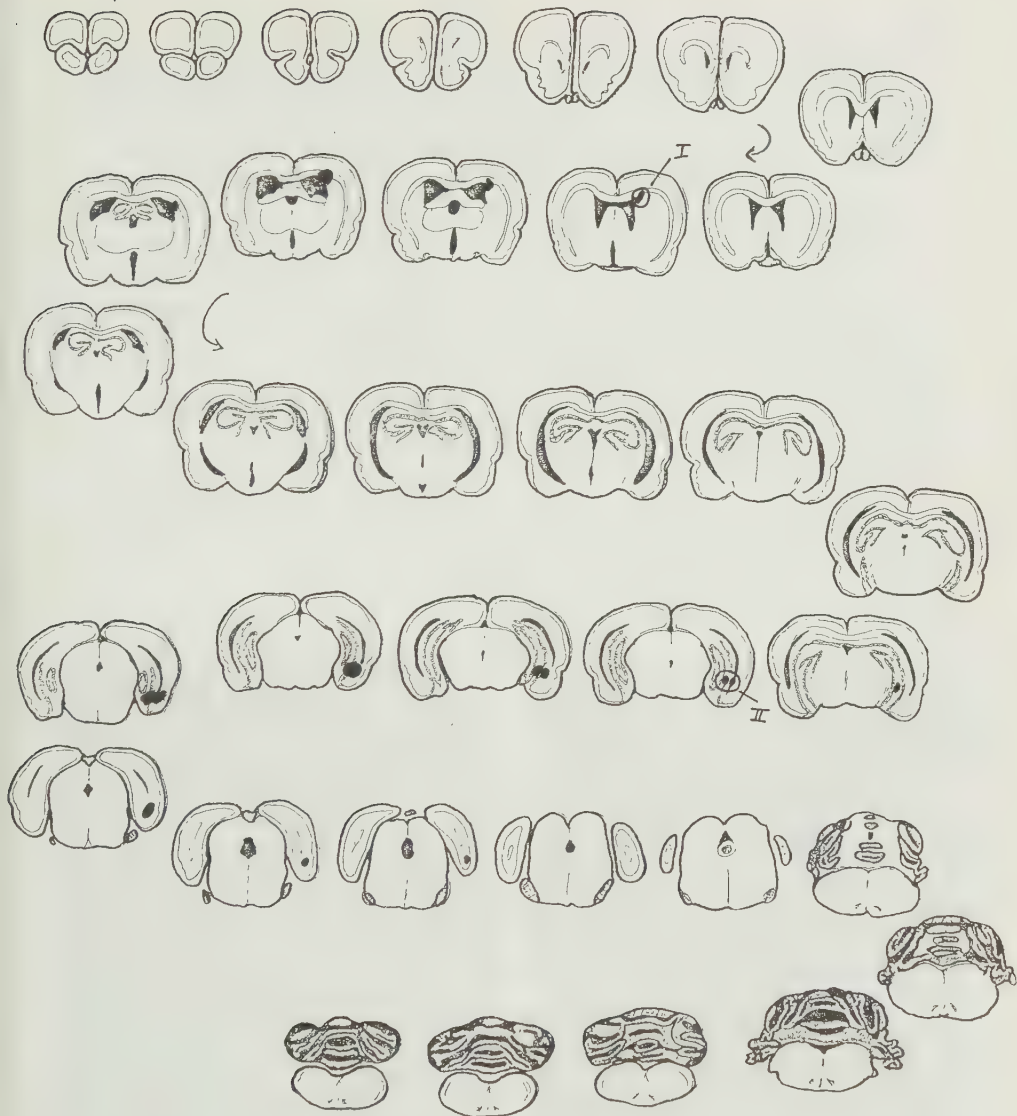
Präparat Nr.1030:

In diesem Gehirn war k e i n neoplastisches Wachstum nachweisbar. Präparation und Fixierung des Gehirns waren zwar erst mehrere Stunden nach Eintritt des Todes erfolgt (s.S.103), die mikroskopische Beurteilung der histologischen Strukturen war trotzdem in allen Schnitten möglich. Jedoch ist es nicht völlig auszuschließen, daß sich kleinste praeneoplastische Proliferate infolge der postmortalen Veränderungen dem Auge des Betrachters entzogen.

Präparat Nr.1031:

- I (39-60)/Mik: Mikro-Mischgliom am Oberrand des linken Seitenventrikels, im Winkel zwischen Corp. callosum und Nucl. caudatus; relativ geringe Zelldichte, weitflächige Ausdehnung. Heteromorpher Aufbau aus überwiegend astrozytären und oligodendrozytären Elementen sowie aus unterschiedlich großen, vermutlich der subependymalen Matrixplatte entstammenden Zellen.
Durchmesser: 1400 µm
- II (83-113)/Mak: Aus mehreren Einzelherden in der linken Fissura hippocampi, im subkortikalen Marklager und angrenzenden Neocortex konfluierendes Mischgliom. Weitmaschiges und großflächiges Geschwulstfeld aus gliösen Zellen der astrozytären und oligodendrozytären Reihe, teilweise mit den Zeichen der Entdifferenzierung.
Durchmesser: 2400 µm

Bei diesem Tier fand sich außerdem ein nach intrakraniell infiltrierendes P l a t t e n e p i t h e l - C a r c i n o m . vermutlich ausgehend vom rechten Ohr (s.S. 170).



Kontrollpräparate Nrn. 1005, 1016 und 1029:

Um die b l a s t o m a t ö s e Natur der oben beschriebenen Proliferate - insbesondere der frühen neoplastischen Veränderungen (FNP₁) - weiter zu sichern, wurden Gehirn-Stufenschnitte von 3 n i c h t ÄNH-exponierten Ratten angelegt und ebenfalls lichtmikroskopisch untersucht.

Bei lückenloser Durchmusterung ließen sich in keinem dieser Präparate feingewebliche Areale nachweisen, welche mit den bei exponierten Ratten angetroffenen Frühstadien vergleichbar gewesen wären. Insbesondere waren hier in keinem Fall die für blastomatöse Foci charakteristischen Merkmale wie "Metachromasie" der Grundsubstanz oder Gliazellgruppierungen (Satellitose, interfazikuläre Hyperplasie) verifizierbar.

Die Präparate Nrn. 1005 u. 1016 wurden außerdem noch zur Beantwortung spezieller Fragestellungen im Rahmen der autoradiographischen Untersuchungen herangezogen (siehe dort).

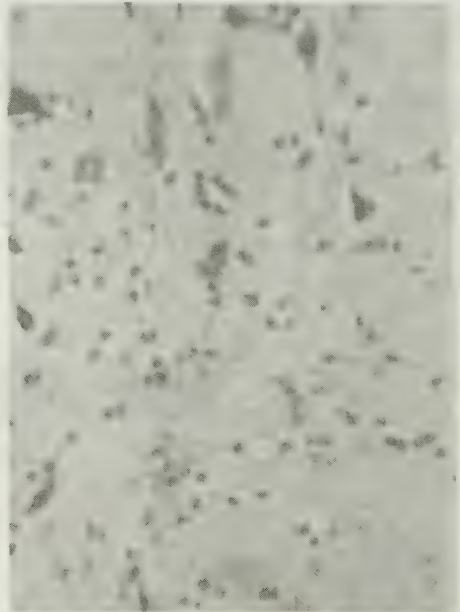


Abb. 30 a,

b,

2) Auswertung der mikroskopischen Befunde:

Zwei der ursprünglich 30 diaplazentar ANH-exponierten Ratten verstarben ohne erkennbare Ursache und ohne vorherige Tumorsymptomatik. Die zum Zeitpunkt ihres Auffindens bereits fortgeschrittenen postmortalen Veränderungen ließen eine Präparation und histologische Untersuchung des Gehirns nicht mehr zu. Die folgenden Auswertungen beziehen sich deshalb auf eine Fallzahl von 28 Tieren.

Tab. 4 zeigt eine Zusammenstellung sämtlicher experimentell induzierter Tumoren des Nervensystems (n = 122):

I	<u>Hirntumoren:</u>	107 Gliome (davon 75 Frühstadien)
		1 Ependymom /-blastom
	<u>Meningealtumoren:</u>	2 Sarkome
		außerdem: 2 Fälle von Meningeosis gliomatosa
II	<u>Rückenmarkstumoren:</u>	5 Gliome
III	<u>PNS - Tumoren:</u>	5 Trigeminstumoren (4 Neurosarkome, 1 Neurinom)
		2 Plexustumoren (Neurosarkome)

a) Tumor-Inzidenz:

Bei 26 der insgesamt 28 Ratten entwickelten sich neurogene Tumoren, dies entspricht einer Inzidenz von 93 %.

Bei 25 Ratten ließen sich intrazerebrale Neoplasien nachweisen (89 %). Diese wiederum waren in 92 % der Fälle multipel, d.h. in 23 Gehirnen

fanden sich zwei oder mehr blastomatöse Proliferate, welche als sicher voneinander getrennt angesehen werden konnten (s. Abb. 30c). Insgesamt ergaben sich 108 Hirntumoren, dies entspricht einer mittleren Tumorzinzidenz von 4,3 pro Gehirn. Eine Aufschlüsselung ihrer Häufigkeitsverteilung gibt auch die folgende Zusammenfassung:

Tumorzinzidenz	-neurogene Tumoren:	93 % [⊕])
	-Hirntumoren:	89 %
	davon multipel:	92 %

multiple Hirntumoren	- mittlere Tumorzinzidenz:	4,3 pro Gehirn
	- Häufigkeitsverteilung:	

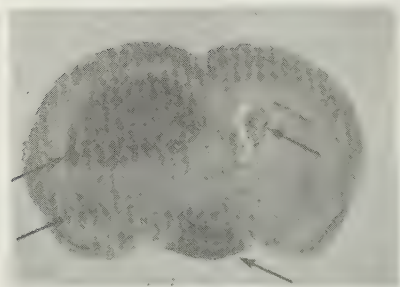


Abb. 30c,

Tumoren pro Gehirn:

Bei Ratten:

2	4
3	
4	3
5	2
6	1
7	2
8	2
10	1

Viele der blastomatösen Proliferate sind einander sehr eng benachbart und lassen darauf schließen, daß sie im Verlauf ihres weiteren Wachstums zu einem größeren, multizentrisch-angelegten Neoplasma konfluieren würden. Dies hat natürlich zur Folge, daß sich im Durchschnitt bei den jüngeren Tieren mehr Einzelproliferate nachweisen lassen als bei den älteren, wo die absolute Tumorrare pro Gehirn durch Konfluenz bereits reduziert ist. Die Tumorzinzidenzen unterschiedlich alt gewordener Ratten lassen sich deshalb zunächst nicht miteinander vergleichen.

[⊕])einschließlich Tumoren der Hirnnerven, des Rückenmarks u. PNS; s. Kap. D/III 1.

Eine Vergleichsmöglichkeit ist jedoch dann gegeben, wenn man in allen Gehirnen erg. benachbarte Prolifere zu einem einzigen Tumor zusammenfaßt. - Daß man zu diesem Vorgehen berechtigt ist, beweisen die zahlreichen Beobachtungen unterschiedlich weit fortgeschrittener Konfluenz (z.B. Nrn.1007/II, 1012/I, 1017/I) und großer, eindeutig multizentrisch angelegter Tumoren (z.B. Nrn.1028/III, 1031/II).

Tab. 5a) zeigt für alle Hirnpräparate eine Gegenüberstellung der absoluten Tumorrare und der unter Berücksichtigung der Konfluenz korrigierten Tumorzinzidenz. Dabei wird deutlich, daß die Inzidenz (korrig.) in allen Altersstufen annähernd gleich bleibt - abgesehen von kleineren individuellen Schwankungen. Besonders ausgeprägt ist die Differenz zwischen der absoluten Anzahl nachgewiesener Proliferationsherde und der korrigierten Tumorrare bei den im Alter von 105 Tagen getöteten Ratten (Nrn.1001 - 1004). Die hier zahlenmäßig ganz im Vordergrund stehenden Frühstadien liegen meist eng benachbart, zeigen aber auf Grund ihrer geringen Ausdehnung noch keine Tendenz zur Konfluenz (vergl. v.a. Nr.1003).

In Tab 5b) werden die Inzidenzraten noch einmal einander gegenübergestellt, wobei eine Zusammenfassung zu verschiedenen Altersgruppen die Übersichtlichkeit verbessern soll. Auch hier zeigt sich die fast gleichbleibende Inzidenzrate.

Tab.5a : Anzahl der Tumoren pro Gehirn

Fräkt. (1000 Tiere)	n absolut	n korrig.
1001 (105)	8	4
1002 (")	3	2
1003 (")	16	6
1004 (")	7	3
1007 (216)	4	4
1008 (223)	2	2
1009 (251)	3	3
1010 (242)	3	3
1011 (265)	3	2
1012 (272)	4	3
1013 (")	5	3
1014 (")	2	2
1015 (274)	8	7
1017 (293)	3	3
1018 (")	1	1
1019 (324)	2	2
1020 (341)	3	2
1021 (358)	6	4
1022 (")	7	6
1023 (413)	1	1
1024 (440)	3	2
1025 (512)	3	3
1026 (")	4	3
1028 (501)	5	4
1031 (527)	2	2

Tab.5b : Tumorzinzidenz der verschiedenen Altersgruppen

Alter zum Tötungszeitpunkt (n...Anzahl der Tiere)	Inzidenz absolut	Inzidenz korrig.
105 Tage (n=4)	8.5	3.75
225 " (n=4)	3.0	3.0
270 " (n=5)	4.2	3.4
293 " (n=2)	2.0	2.0
333 " (n=2)	2.5	2.0
420 " (n=4)	4.25	3.25
573 " (n=2)	3.5	3.0
694 " (n=2)	3.5	3.0

b) Stadieneinteilung der Tumoren:

Zum Zwecke einer genaueren Beschreibung der blastomatösen Proliferationen erfolgte eine Einteilung in 4 verschiedene Tumorstadien, wobei sowohl *G r ö ß e* als auch *W a c h s t u m s v e r h a l t e n* berücksichtigt wurden (siehe auch Abschn. D/II 1, S.104). Diese Unterteilung darf allerdings nur als eine mehr orientierende Kennzeichnung des jeweiligen Proliferats verstanden werden, da beide Parameter nicht in klar definierten Grenzen zu fassen sind. Dies gilt v.a. für die *G r ö ß e*, welche infolge spezieller Formeigentümlichkeiten des Neoplasmas oft gar nicht genau angegeben werden kann. Hierbei sind besonders die häufigen Frühstadien im subkortikalen Marklager der Hippocampusregion zu erwähnen, welche in der Regel schalenförmig an das Ammonshorn angelagert sind und sich im mikroskopischen Schnitt flach und langgestreckt darstellen.

Die 4 Tumorstadien wurden folgendermaßen definiert:

F N P₁: ("frühe neoplastische Proliferation"):

Blastomatöser Fokus in statu nascendi. Kleinster umschriebener Herd gering vermehrter, isomorpher Zellen. Oft nur erkennbar an einer Auflockerung und rötlichen Färbung ("Metachromasie") der Grundsubstanz.

Mittlerer Durchmesser: ca. 300 μm (Streubreite: 150 - 600 μm)

F N P₂: Im Durchmesser größeres Proliferat (oft durch Konfluenz!), im histologischen Bild ebenfalls ohne Zeichen einer erhöhten Wachstumsneigung oder malignen Entartung.

Mittlerer Durchmesser: ca. 650 μm (Streubreite: 250 - 1900 μm)

M i k r o t u m o r ("Mik"): Mit dem unbewaffneten Auge deutlich erkennbares Proliferat, ohne Zeichen einer Raumforderung. Umschriebene Vermehrung dichtgelagerter, iso- bis pleomorpher Zellen; nicht selten heteromorpher Aufbau; erhöhte Mitoserate. Allenfalls beginnende Zeichen einer Entartung.

Mittlerer Durchmesser: ca. 1400 μm (Streubreite: 700 - 2400 μm)

M a k r o t u m o r ("Mak"): Raumfordernder Tumor mit den Zeichen fortgeschrittener Entartung. Zell- u. Mitose-reich, polymorphes Zell- u. Kernbild, Gefäßproliferationen, Nekrosen, Einblutungen.

Mittlerer Durchmesser: ca. 2900 μm (Streubreite: 2000 - 4700 μm)

Die einzelnen Tumorstadien traten in folgender Häufigkeit auf:

FN ₁	:	31	=	29 %
FN ₂	:	44	=	41 %
Mik	:	27	=	25 %
Mak	:	6	=	5 %

Mit steigendem Alter der Tiere (i.e. zum Zeitpunkt des Tötens) kommt es erwartungsgemäß zu einer Zunahme des mittleren Tumordurchmessers (Tab. 6 u. Abb. 31). Dies beruht zum einen auf dem Wachstum des Einzelproliferats, zum anderen auf der bereits erwähnten Konfluenz mehrerer blastomatöser Foci (s.a.S. 154 ff.). Abb. 32 zeigt ebenfalls das Überwiegen der mittleren und großen Tumorstadien bei den älteren Tieren; bemerkenswert ist aber, daß auch hier immer noch Frühstadien in statu nascendi gefunden werden können.

Tab. 6: Zusammenhang zwischen Alter und mittlerem Tumordurchmesser

105	Tage	:	340 μm
225	"	:	710 "
270	"	:	800 "
320	"	:	870 "
398	"	:	975 "
449	"	:	1015 "
573	"	:	910 "
661	"	:	1500 "
727	"	:	1850 "

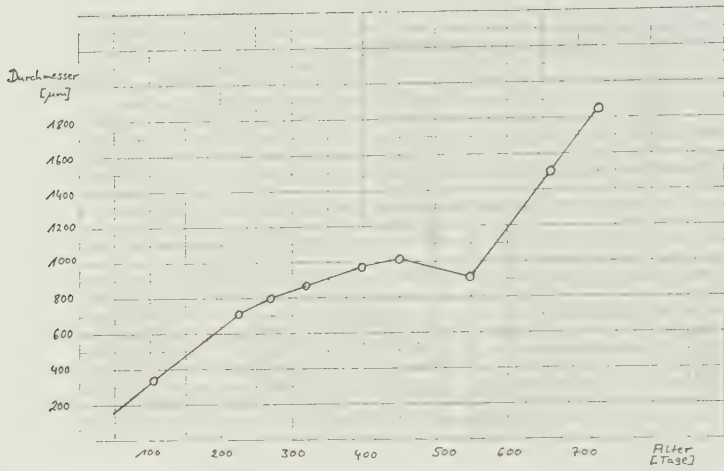


Abb. 31: Graph. Darstellung der Alter-/Durchmesser - Beziehung



Abb. 32: Häufigkeitsverteilung der einzelnen Tumorstadien in Abhängigkeit vom Alter

c) Histologie:

Die genaue histologische Zuordnung der intrazerebralen Neoplasmen stieß in vielen Fällen auf Schwierigkeiten; grundsätzlich kann aber festgestellt werden, daß es sich nahezu ausnahmslos um g l i o g e - n e Tumorproliferationen handelte. Insbesondere die Frühstadien (FNP₁ u. FNP₂) waren häufig aus undifferenzierten Gliazellen aufgebaut, ihr Gewebsbild wies entweder Astrozytom- oder Oligodendrogliom-artige Kennzeichen auf, oder auch beide zusammen. Die Richtung einer späteren Differenzierung mußte offen bleiben.

Die zahlenmäßig am stärksten vertretene Gruppe waren die gliogenen M i s c h - Tumoren, welche eine auffällige lokalisatorische Bindung an die Seitenventrikel-nahen Strukturen zeigten.

Als weitere Einzelgruppen sind noch zwei histologische Typen besonders zu erwähnen:

- 1) die isomorphen O l i g o d e n d r o g l i a - Proliferate, welche v.a. im Cortex, Stammganglien- u. Hirnstammbereich angetroffen wurden
- 2) A s t r o z y t e n - ä h n l i c h e Zellproliferate, welche das Gros der Frühstadien in der Hippocampusregion bildeten.

Vorwiegend in den Mischgliomen der Seitenventrikel-nahen Strukturen war nicht selten eine kleine Zelle mit chromatindichtem, unregelmäßig geformten Kern anzutreffen, die mit den undifferenzierten Zellen der subependymalen Matrixzone identisch zu sein schien.

Zwei Makrotumoren wiesen die typischen Kennzeichen eines malignen Glioms auf, mit Mitose- u. Gefäßreichum, Zell- u. Kernpolymorphie, Riesenzellen, Kapillarproliferationen, zentraler Nekrose und Einblutungen - wie beim Glioblastom (Nrn. 1022/I, 1028/I).

Tab.7 zeigt die Häufigkeit der einzelnen histologischen Typen (s.a. Tab.2).

Tab. 7: Häufigkeit der einzelnen histologischen Typen

Mischgliome (n= 28)	26,0%
Astrozytom-artige Proliferate (n= 25)	23,2%
Oligodendrogliome (n= 25)	23,2%
Oligodendrogliom-artige Proliferate (n= 22)	20,4%
Oligodendrogliom-/Astrozytom-artige Proliferate (n= 3)	2,7%
"Glioblastome" (n= 2)	1,8%
SMZ-Zell -Proliferat (n= 1)	0,9%
Astrozytom (n= 1)	0,9%
Ependymom/-blastom (n= 1)	0,9%

Anm.: SMZ ... Subependymale Matrixzone

Der bereits erwähnte, häufig zu beobachtende Zusammenhang zwischen Tumorhistologie und Lokalisation wird in Abb. 33 dargestellt.



Abb. 33: Zusammenhang zwischen Histologie u. Lokalisation

Der histologische Aufbau ließ außerdem eine gewisse Beziehung zur Tumorgröße bzw. - mittelbar - zum Alter der Tiere erkennen. Die frühen blastomatösen Veränderungen (FNP₁, FNP₂) waren zumeist isomorphe Oligodendrogliome bzw. Astrozytom-/Oligodendrogliom-

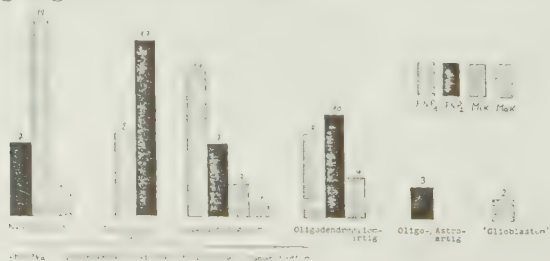
artige Proliferate. Die teilweise auch pleomorphe Züge aufweisenden Mischgliome waren größer und fast ausschließlich der Gruppe der Mikrotumoren zuzurechnen, seltener auch dem FNP₂-Stadium. Die beiden malignen Gliome entsprachen gemäß ihrem Durchmesser (2500 µm u. 4700 µm) dem Makrotumor-Stadium.

Der Anteil der Mischgliome und pleomorphen Gliome an der Gesamtzahl der Tumoren erhöhte sich mit zunehmendem Alter der Ratten:

Alter:	Mischgliome: [⊕])	pleomorphe Gliome: [⊕])
105 Tage	0	0
225 "	25 %	0
270 "	31,8 %	4,5 %
420 "	53 %	11,7 %
694 "	58 %	20 %

[⊕]) in Prozent der Tumoren insgesamt

Abb. 34 zeigt die Beziehungen zwischen Histologie und Tumorgröße (Stadium). Dabei ist natürlich zu berücksichtigen, daß in die Definition der Tumorstadien bereits das histologische Verhalten eingegangen ist (s.o.) und dadurch gewissermaßen dieser Zusammenhang zwischen Histologie und Größe schon von vorneherein festgelegt wurde. Unabhängig hiervon hat aber dennoch die Beobachtung weitgehend Allgemeingültigkeit, daß die experimentell-induzierten Hirntumoren mit zunehmender Größe eine Veränderung ihres histologischen Zustandsbildes erfuhren, und zwar von einem zunächst überwiegend isomorphen Aufbau aus unterschiedlich ausdifferenzierten Gliazellen, über eine heteromorphe Zwischenstufe (Mischgliom) zu einem schließlich pleomorphen Tumor mit Malignitätszeichen. Die diesbezüglichen Beobachtungen (s.a. Abb. 31 u. Abb. 32) scheinen zu der Annahme zu berechtigen, daß zumindest für die Mehrzahl der experimentellen Neoplasmen das Durchlaufen dieser einzelnen Stadien als Gesetzmäßigkeit der Tumorentwicklung angesehen werden kann.



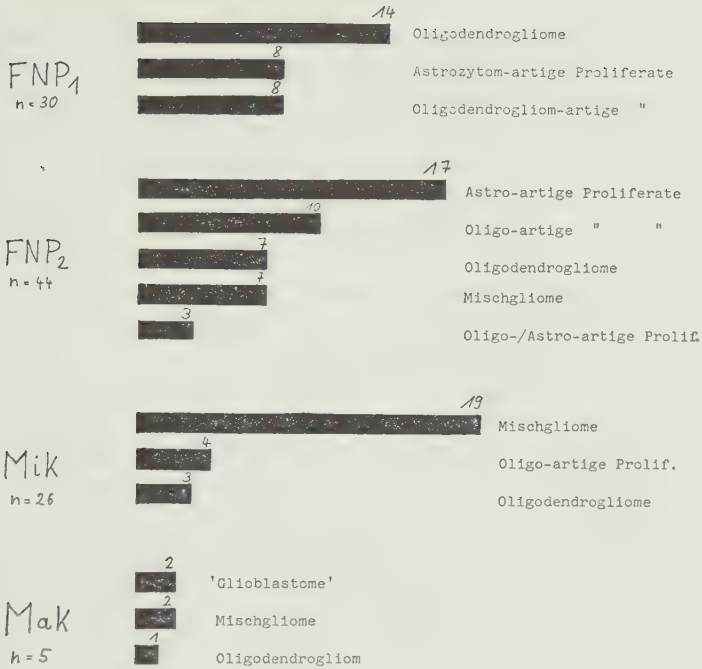


Abb. 3+4: Aufgliederung der Tumorstadien nach den vorherrschenden histologischen Typen

Im folgenden sollen die einzelnen histologischen Typen anhand ihrer wesentlichen Merkmale zusammenfassend dargestellt werden. In vielen Fällen ist eine genaue Geschwulst-typologische Zuordnung nicht möglich, die Charakterisierung hat sich auf eine Beschreibung des mikroskopischen Bildes zu beschränken. Dies betrifft v.a. die frühen neoplastischen Veränderungen, an deren Aufbau Überwiegend undifferenzierte Gliazellen beteiligt zu sein scheinen. Diese werden auf Grund ihres lichtmikroskopischen Erscheinungsbildes und zum Zwecke einer gewissen Systematisierung als Oligodendrogliom- " a r t i g " bzw. Astrozytom- " a r t i g " beschrieben, ohne daß damit ihre tatsächliche weitere Differenzierung zum Ausdruck gebracht werden soll.

Oligodendrogliom: Diese Geschwulstart war die am eindeutigsten identifizierbare Einzelgruppe und deckte knapp ein Viertel der Tumoren insgesamt ab. Vorwiegend handelte es sich um kleine und kleinste blastomatöse Proliferate aus runden, isomorphen, zytoplasmaarmen und chromatindichten Zellen geringen Durchmessers, typische "Zellkammerchen" bildend. Charak-

teristisch war ihre häufige Gruppierung um präexistente Ganglienzellen herum ("periganglionäre Satellitose") bzw. - im Marklager - eine Vermehrung der Oligodendrozyten zwischen den Fasern der weißen Substanz ("interfaszikuläre Hyperplasie"). Es fanden sich aber auch größere Oligodendrogliome mit hoher Zelldichte und der für diese Geschwulst-art typischen "Honigwaben"-Struktur. In den Randbezirken formierten sich die Geschwulstzellen auch hier zu langen interfaszikulären Zellreihen oder zu Satellitose-Gruppen. Dieses charakteristische Phänomen war auch noch in jenen Oligodendrogliomen nachzuweisen, deren überwiegend pleomorpher Aufbau schon auf die beginnende Entartung hinwies.

Hauptsächliche Lokalisationen der reinen Oligodendroglia-Proliferate waren Cortex, Stammganglien und Hirnstamm.

In diesen Vorzugslokalisationen fanden sich nicht selten neben den eindeutig als Oligodendrogliome identifizierbaren Tumoren auch blastomatöse Zellproliferationen, welche zwar am ehesten der oligodendrozytären Reihe zugeordnet werden konnten, die aber dennoch einige typische Merkmale der Oligodendrozyten vermissen ließen. Diese kleinen Zellen mit wechselnder, meist geringerer Chromatindichte waren oft wie Oligodendrozyten satellitenförmig um die Ganglienzellen herumgelagert oder perlschnurartig zwischen den Markfasern vermehrt, fast immer fehlte aber der optisch "leere" Zytoplasmasaum, der sonst das charakteristische Bild der "Zellkammerchen" bewirkt. Möglicherweise handelte es sich um Proliferationen unreifer Oligodendrozyten.

Abb. 35a: Blastomatöser Oligodendroglia-Fokus in st.nascendi. Deutliche "Satellitose"-Gruppierung um präexistente Ganglienzellen, außerdem Vermehrung der interfaszikulären Oligodendrozyten im angrenzenden Marklager.

Abb. 35b: Zellreiches Oligodendrogliom. Typische "Honigwaben"-Struktur der chromatindichten runden Zellen mit schmalem, optisch "leeren" Zytoplasmasaum ("Zellkammerchen"). In der Tumorpheripherie Satellitose und interfaszikuläre Hyperplasie.

Abb. 35c: Pleomorphes Oligodendrogliom. Am Rand Satellitose isomorpher Oligodendrozyten.

Abb. 35d: Oligodendrogliom-artiges Tumorproliferat.

Astrozytom: Es fand sich nur ein einziges Neoplasma, welches sicher als Astrozytom einzuordnen war (Nr.1015/VIII). Mittelgroße Zellen mit chromatinarmen Kernen, relativ weitmaschig und synzytial miteinander verwoben, bildeten das typische Gewebsbild dieser Tumorart (s.Abb. 35e).

Hingegen zeigten sehr viele der Frühstadien einen a s t r o z y t o m - a r t i g e n Aufbau, besonders die frühen neoplastischen Proliferationen im subkortikalen Marklager der Hippocampusregion. Unterschiedlich große, synzytial verbundene Zellen mit blassen, vesikulären Kernen waren die vorherrschende Komponente in diesen blastomatösen Arealen (s.Abb.35f).

Ob es im weiteren Verlauf zu einer astrozytären Ausdifferenzierung dieser unreifen Gliazellen gekommen wäre, muß offenbleiben. Die in gleicher Lokalisation bei älteren Tieren anzutreffenden oligodendro-/astrozytären Mischtumoren größeren Durchmessers weisen vielleicht darauf hin, daß eine Weiterentwicklung zu Astrozyten erfolgen kann. Sie zeigen aber auch, daß eine oligodendroglomatöse Differenzierung möglich ist (Nrn.1028/III, 1031/II).

Mischgliome: Diese mit 28 Tumoren größte Geschwulstgruppe war in sich heterogen und setzte sich aus folgenden histologischen Einzeltypen zusammen (jeweils mit Häufigkeitsangabe):

Astro-/Oligodendro-/SMZ-Zellen (n = 13): Diese nach Durchmesser und Proliferationsverhalten meist bereits fortgeschrittenen Neoplasmen waren ausschließlich in Nähe der Seitenventrikel-Vorderhörner anzutreffen. Hier wiederum ließen sich 2 typische Lokalisationen unterscheiden:

1. Seitenventrikel-Umschlagsfalte (Winkel zwischen Nucl.caudatus u. Corp. callosum)
2. Subependymale Region.

Zwei dieser Tumoren waren im Balken lokalisiert, ebenfalls in enger Nachbarschaft zum Seitenventrikel.

Am Aufbau dieses Typs waren mehrere Zellarten beteiligt, welche als Astrozyten und Oligodendrozyten sowie als Zellen der subependymalen Matrixzone (SMZ) identifiziert werden konnten. Daneben fanden sich vereinzelt unreifere zelluläre Entwicklungsformen. - Siehe Abb.36a.

Einer dieser Tumoren wies ein zentralständiges Mikro-Ependymom auf, welches geweblichen Kontakt zum Ventrikelependym zeigte (s.Abb.29).

Oligodendro-/Astrozytom (n = 7): Diese meist größeren Prolifere waren hauptsächlich in der Hippocampusregion lokalisiert. Vorwiegend oligodendrozytäre Abschnitte wechselten sich ab mit mehr astrozytär-ausdifferenzierten Arealen, teilweise waren beide Komponenten ineinander vermischt (s.Abb.36b).

Oligodendro-/ SMZ-Zellen (n = 4): Einige der SV-nahen Mischtumoren zeigten einen vorherrschend oligodendroglösen Aufbau, durchsetzt mit Zellen, welche der subependymalen Matrixplatte zu entstammen schienen (s.Abb.36c).



a₃



b₁



c₁

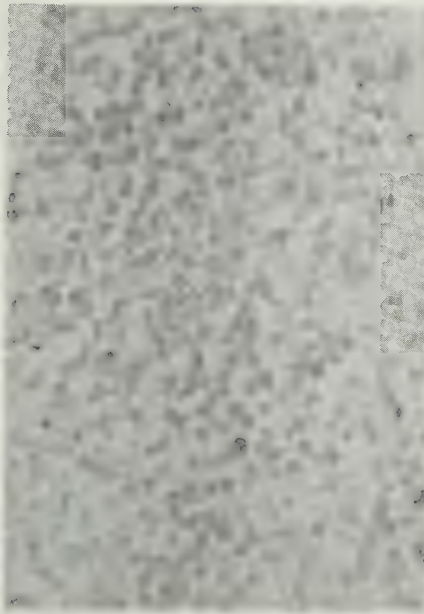


d₁

50187

IT

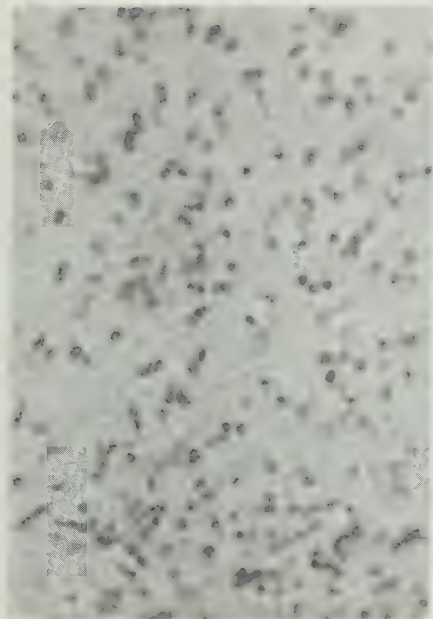
1: _____, 2: _____



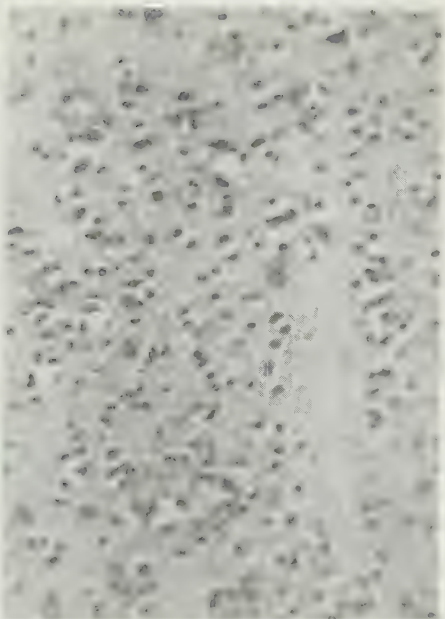
e



f



Flu - 2



h



35



41



42

"Glioependymom" (n = 3): In einem Gehirn (Nr.1021) fanden sich 3 kleine Oligodendrogliome, welche ependymomartige Abschnitte aufwiesen. Ob es sich hierbei wirklich um proliferierende Ependymzellen handelte oder ob zellreichere Tumorareale (Proliferationszentren ?) ein dem Ependymom ähnliches Gewebsbild nachahmten, bleibt offen. - Siehe Abb.36d.

Glioblastom: Zwei pleomorphe Mischgliome (Nrn.1022/I, 1028/I) wiesen die typischen Merkmale maligner Gliome - "Glioblastome" - auf: Zell- u. Mitosereichtum, Kern- u. Zellpolymorphie, Riesenzellen, zahlreiche Kapillarknäuel und Wucherungen der perivaskulären Adventitia, zentrale Nekrosen und Einblutungen. An der Tumorperipherie auch hier isomorphe Oligodendrogliom-Bezirke. - Siehe Abb.36e.

Ependymom/-blastom: Ein zellreicher Tumor am kraniozervikalen Übergang (Nr.1010/III) konnte als Ependymom bzw. Ependymblastom identifiziert werden. Die in Reihen angeordneten, relativ chromatinreichen und zytoplasmaarmen Zellen bildeten vereinzelt typische perivasal-zellfreie Höfe (Abb.37a).

Schließlich fand sich noch ein kleinstes blastomatöses Proliferat in st. nasc., welches offenbar ausschließlich aus undifferenzierten Zellen der subependymalen Matrixzone aufgebaut war (Nr.1026/III). Diese kleinen, dunklen Zellen waren in Gruppen um die Ganglienzellen des angrenzenden Striatum herum angeordnet. - Abb.37b.

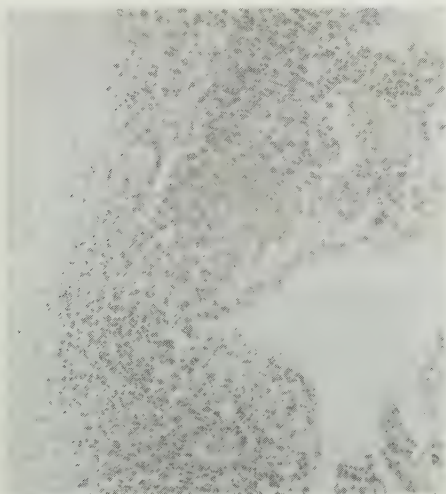
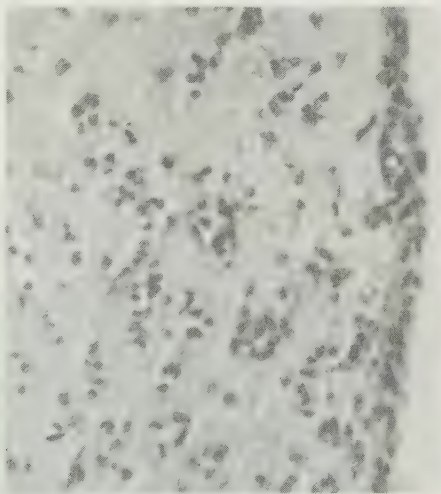


Abb.37 a,



b,

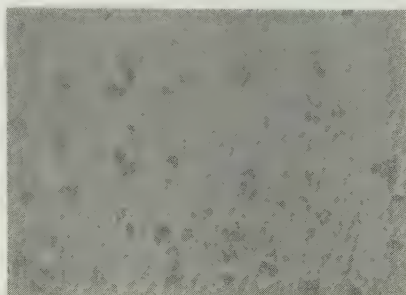
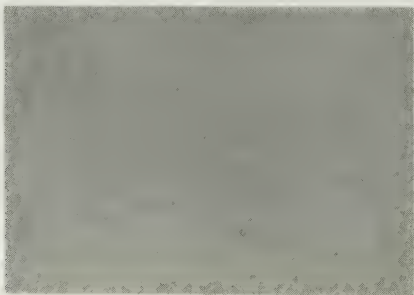
Während die größeren Tumorphiliferate in der Regel eine gleichmäßige Wachstumsausdehnung in alle Richtungen und damit vorherrschend eine Kugelgestalt aufwiesen, welche die Festlegung ihres Durchmessers erleichterte, folgten die frühen blastomatösen Veränderungen hauptsächlich den vorgegebenen Strukturen ihres Ursprungsgewebes. So nahmen die Tumorphrühstadien im schmalen Band des subkortikalen Marklagers der Hippocampusformation vorwiegend eine flache, schalenförmige Gestalt an, die häufig durch Konfluenz mehrerer benachbarter Proliferate noch verstärkt wurde. Daraus resultierte eine schmale, lang ausgezogene Form im mikroskopischen Schnittbild, weshalb hier oft eine Größenbestimmung nicht möglich war. Ebenso folgten die im Winkel zwischen Nucl. caudatus und Corp.callosum lokalisierten Tumoren meist dem weiteren Verlauf des Balkens nach lateral, wodurch im Frontalschnitt eine typische Dreiecksform zustande kam, mit Basis an der Ventrikelumschlagsfalte und spitzem Winkel im sich verjüngenden Corp.callosum. Lediglich in den Stammganglien und im Hirnstamm nahmen bereits die Frühstadien Kugelgestalt an.

Ein regelmäßig zu beobachtendes Phänomen war die A u f l ö c k e -
r u n g und r ö t l i c h e V e r f ä r b u n g der G r u n d -
s u b s t a n z zwischen den Tumorzellen. Dieses Verhalten fand sich sowohl bei den größeren Tumoren als auch bei den frühen neoplastischen Proliferationen, war aber bei letzteren besonders eindrucklich und trug in nicht wenig Fällen zu deren Erkennung maßgeblich bei (hierzu erwies sich auch die Durchmusterung der Präparate mit unbewaffnetem Auge über Rot- bzw. Grünlicht als sehr gut geeignet). Die rötliche Tingierung der Interzellulärsubstanz kann bei der verwendeten Kresylviolett-Färbung als "m e t a c h r o m a t i s c h e s" Verhalten bezeichnet werden, auf dessen ursächliche Erklärung später noch einzugehen sein wird. Optisch "leere" Räume vermittelten den Eindruck der Grundsubstanz-Auflöckerung.

Abb.38a zeigt ein derartiges "metachromatisches" Tumoreareal, welches sich deutlich gegenüber der Umgebung abhebt. In Abb.38b sollen die optisch "leeren" Räume zwischen den Tumorzellen demonstriert werden.

Abb. 38

a,



b,

Metastasierung:

In 3 Gehirnen war eine intrakranielle bzw. intrazerebrale Metastasierung neurogener Tumoren auf dem Liquorweg zu beobachten:

In Präp.Nr.1009 handelte es sich um insgesamt 7 Einzelproliferate desselben histologischen Aufbaus, welche alle mit dem Liquorraum direkt in Verbindung standen bzw. in den zum Subarachnoidalraum benachbarten Hirnabschnitten lokalisiert waren. Als Primärtumor konnte ein im zervikalen RM lokalisiertes malignes Gliom mit Meningeosis gliomatosa vermutet werden (s.Abb.22, S.115).

In Präp.Nr.1010 fand sich ein kleiner Geschwulstzellkomplex, der oberflächlich an den Kleinhirn-Paraflocculus angelagert war und histologisch dem im Hirnstamm lokalisierten Ependymom/-blastom (Nr.1010/III) entsprach. - S.Abb.23a, S.116.

Präp.Nr.1019: Hier lag im Lumen eines Seitenventrikels (ohne festen geweblichen Kontakt zur Ventrikelwand) ein kleines Zellkonglomerat, welches mit der bei diesem Tier gefundenen Meningeosis gliomatosa histologisch identisch war.

d) Lokalisation:

Die Neoplasmen ließen einige typische Vorzugslokalisationen erkennen, unter welchen zwei besonders hervorzuheben sind:

- Hippocampusformation: Hippocampus (v.a.Fissura hippocampi), angrenzendes subkortikales Marklager u.benachbarter Cortex
- Seitenventrikel-Vorderhörner und benachbarte Strukturen: Subependymale Region, SV-Umschlagsfalte (Winkel zwischen Nucl. caudatus und Corp. callosum)

In diesen beiden Hauptlokalisationen fanden sich 67 der 108 Tumoren (62%).

Von den übrigen Proliferaten waren relativ viele in den Stammganglien anzutreffen (13%), die anderen verteilten sich gleichmäßig auf Pons u. Pedunculi cerebri (ca. 8%), Medulla oblongata (ca. 8%) und Cortex (6,5%). Außerdem fand sich noch 1 Optikusgliom im Chiasma opticum.

Im Kleinhirn konnte kein neoplastisches Wachstum nachgewiesen werden.

Tab. 8 zeigt die prozentuale Häufigkeit der einzelnen Tumorlokalisationen. In Abb.39 sind diese in einem Schnittbild-Diagramm graphisch dargestellt.

Tab. 8 :Prozentuale Häufigkeit der Tumorlokalisationen

Hippocampus-Formation		39,8% (n=43)
angrenzendes subkortikales Marklager	26% (n=28)	
Hippocampus	8,3% (n=9)	
angrenzender Cortex	5,5% (n=6)	
Seitenventrikel-Vorderhornregion		22,2% (n=24)
subependymale Region	9,3% (n=10)	
SV-Umschlagsfalte	7,4% (n=8)	
angrenzende Balkenabschnitte	5,5% (n=6)	
Stammganglien		13,0% (n=14)
Pons, Pedunculi cerebri		8,3% (n=9)
Medulla oblongata		8,3% (n=9)
Cortex		6,6% (n=7)
subkortikales Marklager		0,9% (n=1)
Chiasma opticum		0,9% (n=1)
		100,0% (n=108)



Abb. 39: Tumorlokalisationen im Schnittbild-Diagramm

Im vorausgegangenen Abschnitt wurde bereits auf den häufig zu beobachtenden Zusammenhang zwischen Tumortyp und Lokalisation hingewiesen (Abb. 33, S. 144). In Ergänzung zu der dort aus Sicht der Geschwulsthistologie dargestellten Art/Lokalisations-Beziehung sollen hier noch einmal die einzelnen Vorzugslokalisationen und die in ihnen jeweils an-

zutreffenden Tumortypen aufgezeigt werden. Besonders hervorzuheben sind

- die Hippocampusregion, in der undifferenzierte Astrozytom- u. Oligodendrogliom-artige Proliferate vorherrschen,
- die SV-nahen Strukturen mit Überwiegend Mischgliomen,
- Cortex, Stammganglien und Hirnstamm, wo Oligodendrogliome im Vordergrund standen.

Abb. 40 stellt diese Zusammenhänge graphisch dar.

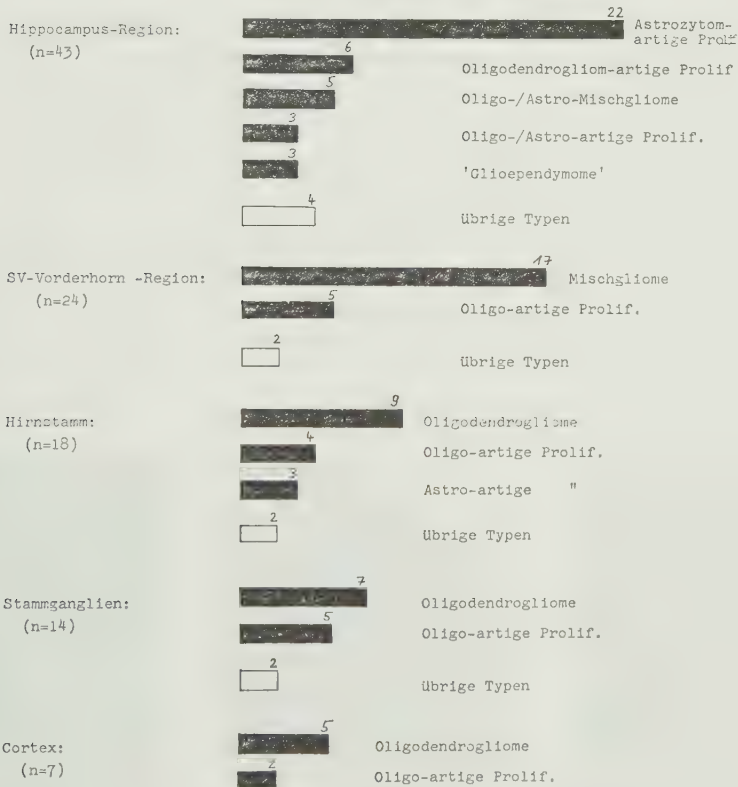


Abb. 40 : Zusammenhang zwischen Lokalisation u. vorherrschendem Tumortyp

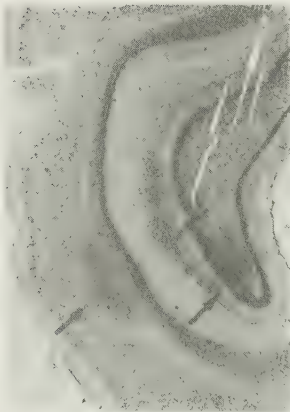
e)_Konfluenz:

Viele der blastomatösen Proliferate entwickelten sich in sehr enger räumlicher Nachbarschaft zueinander (z.B.Nr.1003). Dies traf v.a. für die Frühstadien im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation zu. Bei den jüngeren Tieren waren die einzelnen Proliferationsherde meist deutlich voneinander getrennt, während in den Gehirnen älter gewordener Ratten zunehmend konfluierende Neoplasmen auftraten - bei gleichzeitiger Abnahme der Zahl nicht-konfluierender Proliferate. Dies hatte nicht nur einen Rückgang der durchschnittlichen Tumorfrequenz pro Tier zur Folge (hierauf wurde bereits im Abschnitt II 2)a), S.138, näher eingegangen), sondern wirkte sich neben dem allgemeinen Geschwulstwachstum auch deutlich auf die Größenzunahme der Tumoren aus. So war bei verschiedenen großflächigen Neoplasmen ein Zusammenfließen aus ursprünglich 2 und 3 oder noch mehr Proliferationszentren zu erkennen (z.B.Nrn.1020/I, 1028/III, 1031/II). Dazwischen fanden sich alle Übergänge unterschiedlich weit fortgeschrittener Konfluenz, wodurch dieses möglicherweise nicht nur für das Verständnis des Größenwachstums e x p e r i m e n t e l l e r Gliome wichtige Phänomen demonstriert werden konnte.

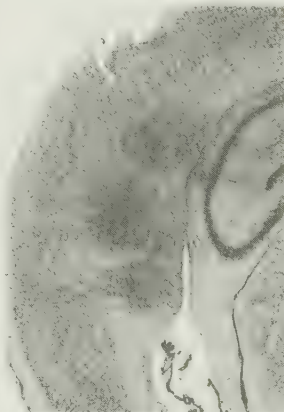
Abb.41a: Mehrere eng benachbarte, deutlich voneinander getrennte Tumorherde

Abb.41b: Beginnende Konfluenz, die ursprünglichen Einzelherde sind noch gut erkennbar.

Abb.41c: Aus mehreren Proliferationszentren konfluierendes, großflächiges Geschwulstfeld.



a,



b,



c,

f) _Früheste_blastomatöse_Proliferationen_:

Etwa 29% (n=31) der experimentell induzierten Neoplasmen mußten als "Früheste Stadien" tumorösen Wachstums - als Tumoren in statu nascendi ("FNP₁") - bezeichnet werden. Bei lichtmikroskopischer Betrachtung stellten sie sich als kleinste umschriebene Areale fokaler Zellvermehrung dar, mit einem Durchmesser von 150 bis 600 µm (durchschnittlich ca. 300 µm). Oft fielen sie bei der orientierenden Durchmusterung der Präparate in Lupenvergrößerung zunächst nur durch eine rötliche ("metachromatische") Färbung und Auflockerung der interzellulären Grundsubstanz auf, die dann das Auge auf diesen verdächtigen Bezirk lenkten (Abb.38). Die Bestimmung des Proliferat-Durchmessers richtete sich hauptsächlich nach der Ausdehnung dieses in seiner Farbtönung veränderten Areals, wodurch der relativ hohe Grenzwert von 600 µm zustande kam. In der Regel lagen die meist zu kleinsten Grüppchen formierten Tumorzellen weitflächig verstreut innerhalb dieses präneoplastischen Bezirks (Abb.30b), wobei sie nicht selten nach Art der Satellitose um präexistente Ganglienzellen angeordnet oder in Form der interfaszikulären Hyperplasie zwischen den Markfasern aufgereiht waren. Gelegentlich wirkte ihr Chromatingehalt etwas dichter als bei den nicht-tumorösen Zellen der Umgebung.

Die Häufigkeit dieser frühesten neoplastischen Prolifere war zwar bei den jünger-getöteten Tieren am größten (bei den Tieren, die mit 105 Tagen getötet wurden, betrug ihr relativer Anteil 47%), es fanden sich diese Frühstadien aber in allen Altersstufen, und sogar die ältesten Tiere wiesen noch derartige präneoplastische Areale auf. In Prozenten der jeweiligen Tumorgesamtzahl ergab sich folgende Alter/Häufigkeits-Beziehung:

105 Tage : 47 % (16/34)
(n=4)

225 Tage : 17 % (2/12)
(n=4)

270 Tage : 18 % (4/22)
(n=5)

313 Tage : 22 % (2/9)
(n=4)

420 Tage : 12 % (2/17)
(n=4)

573 Tage : 43 % (3/7)
(n=2)

694 Tage : 28 % (2/7)
(n=2)

Diese Häufigkeitsangaben dürfen allerdings nicht für sich alleine betrachtet werden, ihre Aussagekraft wird, wie bereits weiter oben dargelegt, durch den altersabhängigen Vorgang der Konfluenz relativiert. Immerhin bleibt aber die interessante Beobachtung festzuhalten, daß selbst bei den ältesten Tieren - also nach einem großen Intervall seit dem Zeitpunkt der Kanzerogen-Exposition - noch Frühstadien tumorösen Wachstums in st. nasc. nachgewiesen werden können.

Diese Frühstadien waren in allen Lokalisationen nachzuweisen, in denen auch die größeren Tumoren gefunden wurden:

Hippocampusregion:	45 %	(n = 14)
Hirnstamm:	26 %	(n = 8)
Stammganglien:	16 %	(n = 5)
SV-Vorderhorn-nahe Strukturen:	10 %	(n = 3)
Cortex:	3 %	(n = 1)

Das Zellbild war durchwegs isomorph. Undifferenzierte gliogene Zellen und Oligodendrozyten waren die bestimmenden Elemente dieser blastomatischen Anfangsstadien:

Oligodendrogliä-Proliferate:	45 %	(n = 14)
Astrozyten-artige Zellproliferate:	26 %	(n = 8)
Oligodendrozyten-artige " " :	26 %	(n = 8)
Proliferat aus Zellen der SMZ:	3 %	(n = 1)

g) Bedeutung von Geschlecht u. Expositionszeitpunkt für die Tumorentwicklung

Vorbehaltlich der geringen statistischen Aussagekraft einer Fallzahl von nur 28 Tieren konnte eine gewisse Abhängigkeit der Tumorentwicklung von Geschlecht und Expositionszeitpunkt beobachtet werden: Bei den männlichen Ratten lag die Inzidenz neurogener Tumoren deutlich über derjenigen der weiblichen Tiere und zwar sowohl bezüglich der Hirntumoren als auch hinsichtlich der Geschwülste im übrigen Nervensystem. Zusätzlich fiel auf, daß bei den Weibchen sämtliche außerhalb des Gehirns aufgetretenen neurogenen Tumoren im Rückenmark lokalisiert waren.

	männlich (n=16):	weiblich (n=12):
Tumorinzidenz (insges.):	3,8 pro Tier	2,7 pro Tier
Hirntumoren *):	3,1 " "	2,3 " "
außerhalb des Gehirns:	0,7 " "	0,4 " "
(deren Lokalisation:)	(N.trig., PNS, RM, Meningen)	ausschl. RM)

*) unter Berücksichtigung der Konfluenz

Legt man die beiden verschiedenen Expositionszeitpunkte zugrunde (Mut-
tertier-Nr.3010: 15.Tag p.c.; -Nr.3014 u.3016: 17.Tag p.c.), so erge-
ben sich hinsichtlich der Hirntumorinzidenz (J_{HT}) [⊕]) keine signifikan-
ten Unterschiede:

Nachkommen von Nr. 3010 : $J_{HT} = 2,7$ pro Tier

" " Nr. 3014 : $J_{HT} = 2,1$ " "

" " Nr. 3016 : $J_{HT} = 3,2$ " "

⊕) unter Berücksichtigung der Konfluenz

Jedoch traten Tumoren des PNS u. des N.trig. nur bei den am 17.Tag
p.c. exponierten Ratten auf.

3) Auswertung der autoradiographischen Ergebnisse:

Bei 8 ANH-exponierten Ratten wurde zusätzlich zur mikroskopisch-histolo-
gischen Beurteilung auch noch eine a u t o r a d i o g r a p h i s c h e
Untersuchung durchgeführt. Deren Aufgabe sollte es sein, durch 3H -Thymi-
din-Markierung aller in der Prämitose-Phase befindlichen, also teilungs-
aktiven Zellen (s.a. 1.Teil E: Autoradiographie, S.73 ff.) Aufschluß
über das P r o l i f e r a t i o n s v e r h a l t e n der Neoplasmen,
v.a. der Frühstadien, zu geben. Als "markiert" wurden alle diejenigen
Zellen betrachtet, über welchen eine Anhäufung von Silberkörnern zu be-
obachten war, die sich eindeutig an die vorgegebenen Zellgrenzen hielt -
ohne Berücksichtigung der jeweiligen quantitativen Silberkorndichte pro
Einzelzelle. Bei allen Präparaten, einschließlich der Kontrollpräparate
Nr.1005 u. 1016, war ein von der eigentlichen radioaktiven Markierung
unabhängiger Silberkorn-Grundscheiter ("Untergrund", "Nullwert")) zu be-
obachten, der als Artefakt betrachtet und von der Auswertung ausgenommen
werden mußte. Durch ihre gleichmäßige und weitmaschige Verteilung konnte
diese artifizielle, vorwiegend auf die natürliche Umgebungsstrahlung zu-
rückzuführende Silberkornbelegung ohne Schwierigkeiten von der dichten,
zellgebundenen Silberkornanhäufung markierter Zellen unterschieden werden.

Zur Bestimmung des Markierungsindex (Mitoseindex J_M) wurden alle markier-
ten Zellen innerhalb eines neoplastischen Areals ausgezählt und mit der
Gesamtzahl der Zellen in Beziehung gesetzt ($J_M = \frac{\text{Zahl d. mark. Zellen}}{\text{Gesamtzahl d. Zellen}}$).

Bei der folgenden Bewertung dieser Markierungsindizes müssen allerdings mehrere Faktoren berücksichtigt werden, welche die Schwierigkeiten und Fehlermöglichkeiten des angewandten Bestimmungsverfahrens deutlich machen. In quantitativer Hinsicht wird durch sie die Aussagekraft der Meßwerte auf eine vorwiegend o r i e n t i e r e n d e Wiedergabe von Größenordnungen reduziert, qualitative Aussagen über das Proliferationsverhalten allgemein und über das Auftreten markierter Zellen außerhalb von blastomatösen Arealen sind jedoch möglich.

1. Alle Auszählungen erfolgten visuell bei hoher mikroskopischer Vergrößerung und ohne apparative Hilfsmittel. Die Möglichkeit einer Mehrfachzählung oder Auslassung von Zellen war gegeben.
2. Die markierten Zellen lagen häufig in Gruppen beieinander, eine gleichmäßig-diffuse Verteilung kam deshalb nur in größeren Tumoren zustande. In den kleinsten Frühstadien hingegen mußte sich diese Gruppierung sehr stark auf den Markierungsindex auswirken, da hier auf Grund der geringen Ausdehnung der Proliferate Schnitte mit relativ vielen markierten Zellen und solche ohne jegliche Markierung einander oft ablösten. Hier war es also entscheidend, ob der jeweilige Schnitt eine solche Gruppe markierter Zellen gerade einschloß oder nicht. Diesem Problem hätte man nur dadurch gerecht werden können, daß man bei allen Proliferaten sämtliche Schnitte ausgezählt und aus den einzelnen Markierungsraten jeweils einen Mittelwert gebildet hätte. Der große zeitliche Aufwand dieses Vorgehens ließ aber hiervon Abstand nehmen und es wurden jeweils die Schnitte mit der größten Anzahl markierter Zellen zur Berechnung des Markierungsindex herangezogen, so daß diese Angaben allgemein als Maximalwerte zu betrachten sind. Proliferate mit dem Index "Null" ließen in keinem Schnitt eine markierte Zelle erkennen.
3. Bei den Frühstadien waren theoretisch nicht alle innerhalb eines blastomatös veränderten Areals befindlichen Zellen als Tumorzellen anzusehen, da sich hier die tatsächlich neoplastisch-transformierten Zellen zwischen den ortsständigen, nicht transformierten entwickelten. Die Berechnung des J_M mußte dies natürlich berücksichtigen, da die Summation aus Tumor- und Nichttumorzellen jenen Wert wesentlich erniedrigt hätte. Zur Annäherung an den wirklichen Markierungsindex wurde deshalb anhand der Auszählung eines benachbarten, gleichgroßen und nicht-neoplastischen Bezirks die Anzahl der Tumorzellen im fraglichen Areal abgeschätzt. Auch hier darf ein relativ hoher Bestimmungsfehler vermutet werden.

Alle in den Präparaten Nrn.1001-1004 u. 1012-1015 mikroskopisch nachgewiesenen und in Kap.D/II 1) (S.104 ff.) ausführlich beschriebenen Tumorproliferate wurden hinsichtlich ihres autoradiographischen Markierungsverhaltens untersucht. In Tab. 9 sind diese Ergebnisse zusammengefaßt:

Tab. 9 :					
Nr.:	Histologie:	Große:	Lokalisation:		I _M [%]:
1001 /I	Oligodendrogliom-artig	Mik	Hirnstamm		1,2
/III	Astrozytom-artig	FNP ₂	SM _(H)		2,7
/IV	" "	FNP ₁	Cortex _(H)		2,6
/VI	" "	FNP ₂	SM _(H)		2,3
/VII	Oligo-artig	"	Balken		3,0
/VIII	Astro-artig	"	"		2,7
/IX	" "	FNP ₂	SM _(H)		3,2
1002 /I	Astro-artig	FNP ₂	SM _(H)		1,8
/II	Oligo-/Astro-artig	"	Cortex _(H)		1,4
/III	Astro-artig	"	SM _(H)		0,3
1003 /I	Oligo-artig	FNP ₂	Hirnstamm		1,3
/II	Oligodendrogliom	FNP ₁	Cortex _(H)		3,5
/III	Oligo-artig	FNP ₂	Hippocampus		3,9
/IV	Oligodendrogliom	FNP ₁	Cortex _(H)		2,7
/V	Astro-artig	FNP ₂	SM _(H)		0,0
/VI	Oligo-artig	"	Cortex _(H)		2,8
/VII	" "	"	"		2,3
/VIII	" "	FNP ₁	Hippocampus		4,0
/IX	Oligo-/Astro-artig	FNP ₂	" "		1,8
/X	Astro-artig	"	SM _(H)		2,1
/XI	" "	FNP ₁	"		0,0
/XII	" "	"	"		1,5
/XIII	" "	"	"		2,2
/XIV	" "	"	"		3,7
/XV	" "	"	"		1,8
/XVI	" "	"	"		3,5
1004 /I	Oligo-artig	FNP ₁	Stammganglien		4,4
/II	" "	"	" "		5,7
/III	Astro-artig	"	SM _(H)		4,0
/IV	" "	FNP ₂	Hirnstamm		3,7
/V	" "	"	SM _(H)		2,4
/VI	" "	FNP ₁	"		2,5
/VII	" "	FNP ₂	"		2,5
1012 /I	Mischgliom	FNP ₂	SV-Umschlagsfalte		1,0
/II	" "	Mik	" "		1,4
/III	Oligo-artig	FNP ₂	SV-nah		2,1
/IV	Oligodendrogliom	FNP ₁	Hirnstamm		0,0
1013 /I	Mischgliom	Mik	Balken		1,8
/II	" "	"	SV-Umschlagsfalte		0,6
1014 /I	Mischgliom	Mik	SV-nah		1,0
/II	Oligo-artig	"	Hirnstamm		0,0
1015 /I	Oligodendrogliom	FNP ₁	Cortex		0,0
/II	Mischgliom	Mik	SM _(H)		2,0
/III	Oligo-artig	FNP ₂	Stammganglien		1,5
/IV	Mischgliom	Mik	SM _(H)		1,7
/VI	Astro-/Oligo-artig	FNP ₂	"		2,4
/VII	Oligodendrogliom	"	Hirnstamm		0,0
/VIII	Astrozytom	Mik	" "		0,4

SM_(H)subkortikales Marklager d.Hippocampusregion
Cortex_(H)Cortex 1.Nachbarschaft z. " "
SV Seitenventrikel

Wie bereits oben erwähnt (s.S. 158), wurden zur Ermittlung der Markierungsindizes jeweils diejenigen Schnitte herangezogen, welche bei orientierender Durchmusterung in Übersichtsvergrößerung die größte Anzahl markierter Zellen erkennen ließen. Somit handelt es sich jeweils um **M a x i m a l w e r t e**, die -streng genommen- **n i c h t** als **r e p r ä s e n t a t i v** für das Tumorphiliferat in toto angesehen werden dürfen, sondern lediglich das Teilungsverhalten im betreffenden Tumor-Ausschnitt wiedergeben.

M i t t l e r e r M i t o s e - I n d e x : $\overline{J}_M = 2,1$

Streubreite: 0,3 bis 5,7

$J_M = 0$: in 12,5 %

J_M - Mittelwerte der einzelnen Proliferations-Stadien:

FNP₁ : $\overline{J}_M = 2,63$
(n=19)

Streubreite: 1,5 bis 5,7

$J_M = 0$: in 15 %

FNP₂ : $\overline{J}_M = 1,96$
(n=20)

Streubreite: 0,3 bis 3,9

$J_M = 0$: in 10 %

Mik: : $\overline{J}_M = 1,12$
(n=9)

Streubreite: 0,4 bis 2,0

$J_M = 0$: in 11 %

Bei den frühen Tumorstadien **k ö n n t e** eine im Mittel höhere Mitoserate vorliegen.

Allerdings können diese Unterschiede auch lediglich dadurch bedingt sein, daß die markierten Zellen oft in kleinen Gruppen beieinander liegen. Diese ungleichmäßige Verteilung wirkt sich natürlich umso stärker auf den Mitoseindex aus, je geringer die Gesamtzahl der im mikroskop. Schnitt angetroffenen Zellen ist (siehe auch S. 158).

J_M - Mittelwerte der einzelnen histologischen Typen:

Oligodendrogliome: (n=5)	$\overline{J_M} = 1,24$	$/J_M = 0$: in 3 (!) Fällen
Oligodendrogliom-artige Proliferate: (n=12)	$\overline{J_M} = 2,68$	$/J_M = 0$: in 1 Fall
Astrozytom-artige Proliferate: (n=20)	$\overline{J_M} = 2,27$	$/J_M = 0$: in 2 Fällen
Mischgliome: (n=7)	$\overline{J_M} = 1,35$	

Der Mitoseindex des Astrozytoms (Nr.1015/VIII) betrug 0,4.

Auffallend ist die geringe Proliferationsaktivität der Mischgliome ($\overline{J_M} = 1,35$; Streubreite: 0,6 bis 2,0). Bei den Oligodendrogliomen ist zu berücksichtigen, daß in 3 von insgesamt 5 Tumoren dieser Spezies überhaupt keine markierten Zellen anzutreffen waren, während die beiden anderen einen relativ hohen J_M aufwiesen (2,7 u. 3,5).

J_M - Mittelwerte in Abhängigkeit vom Alter:

Ein Vergleich der mittleren Markierungsindizes beider Altersgruppen ergibt folgende Werte:

Nrn.1001-1004 (15 Wochen):	$\overline{J_M} = 2,5$	Streubreite: 0,3 bis 5,7 $J_M = 0$: in 6 %
Nrn.1012-1015 (39 Wochen):	$\overline{J_M} = 1,1$	Streubreite: 0,4 bis 2,4 $J_M = 0$: in 26 %

Diese Gegenüberstellung zeigt einen deutlichen Unterschied im Proliferationsverhalten beider Altersgruppen. Versucht man dieses Verhalten weiter zu interpretieren, so scheinen hierbei v.a. zwei Faktoren eine Rolle zu spielen:

1. In der älteren Tiergruppe finden sich relativ viele Proliferate, welche zum Tötungszeitpunkt keine erkennbare Teilungsaktivität aufwiesen ($J_M = 0$ in rd. 1/4 der Fälle).

2. Den vorherrschenden Tumortyp dieser Gruppe bilden die Mischgliome, für welche bereits weiter oben ein im Mittel niedrigerer Mitoseindex beschrieben wurde.

Allerdings läßt dieser mögliche Zusammenhang zwei Deutungen zu: zum einen könnten die Mischgliome tatsächlich ein durchschnittlich geringeres Proliferationsverhalten aufweisen als die übrigen Tumoren, zum anderen könnte ihr niedrigerer Markierungsindex jedoch auch dadurch bedingt sein, daß sie vorwiegend den größeren Tumorstadien zuzurechnen sind, auf deren niedrigeren J_M -Mittelwert ebenfalls bereits hingewiesen wurde.

Mit den bisherigen Ausführungen (S.157 ff.) sollte auch deutlich gemacht werden, daß den autoradiographisch gewonnenen Untersuchungsergebnissen nur mit Vorbehalt eine relevante Bedeutung zuzumessen ist. Es lassen sich zwar mögliche Tendenzen im Proliferationsverhalten der beschriebenen Tumoren erkennen, ihre Interpretation muß jedoch zurückhaltend erfolgen. Die im einzelnen genannten Mitoseraten können nur eine ungefähre Orientierung über die Größenordnung, nicht aber ein absolutes Maß des jeweiligen Tumorwachstums wiedergeben.

Ein Zusammenhang zwischen Z e l l d i c h t e und Mitoseindex konnte n i c h t nachgewiesen werden.

Die Auswertung der autoradiographischen Präparate ergab noch die folgenden Zusatzbefunde:

- Die Autoradiogramme einiger Mikroglione zeigten markierte Zellen nicht nur in den unmittelbaren Tumorrandbezirken, sondern auch im angrenzenden Hirngewebe.
Bei den in enger Nachbarschaft zueinander lokalisierten Frühstadien (v.a. Präparate Nrn.1001-1004) waren die markierten Zellen nicht nur auf die lichtmikroskopisch deutlich unterscheidbaren tumorösen Einzelherde beschränkt, sondern konnten oft auch in den angrenzenden Zwischenräumen angetroffen werden, so daß hier der Eindruck der multizentrischen blastomatösen Umwandlung eines größeren Hirnareals entstand.
- Die subependymale Zone (SMZ) im Bereich der Seitenventrikel-Vorderhörner stellt eine zell- u.mitosenreiche Matrixplatte für die Neubildung von Glia- u. Nervenzellen dar, deren größte Aktivität in der Perinatalperiode liegt (J.ALTMAN, 1966a), welche aber auch noch bei erwachsenen Tieren eine gewisse proliferative Funktion erkennen läßt (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1965; P.D.LEWIS, 1968). Auf die Bedeutung dieser Zellschicht als Prädilektionsort neurogener Tumoren wurde bereits im 1. Teil (s.S. 46 ff.) näher eingegangen; auch durch eigene Beobachtungen konnte dieser Zusammenhang bestätigt werden (siehe "Vorzugslokalisationen", S.151 ff.).

Bei allen autoradiographisch-markierten Präparaten (außer Nr.1013) wurden die Markierungsindizes der subependymalen Matrixzone bestimmt. Es ergaben sich Werte zwischen 3,0 % u. 8,5 %, wobei die 105 Tage alten Tiere einen deutlich höheren Index aufwiesen als die 272 Tage alten Ratten. Dies entspricht den in der Literatur angegebenen Beobachtungen einer höheren proliferativen Aktivität in der SMZ jüngerer Tiere. Allerdings kann dieser Unterschied i.d.vorl. Arbeit auch hierauf beruhen, daß die Präparate Nrn.1001-1004 (105 Tage) in H o r i z o n t a l-, die Präparate Nrn.1012-1015 (272 Tage) in F r o n t a l -Schnitte zerlegt wurden, so daß jeweils verschiedene Abschnitte der SMZ zur Auswertung gelangten. Ein Vergleich der Mitoseraten dieser beiden Altersgruppen ist daher nicht zulässig.

Nr. 1001 :	J_{M-SMZ}	=	6,5 %
Nr. 1002 :	"	=	7,3 %
Nr. 1003 :	"	=	7,5 %
Nr. 1004 :	"	=	8,5 %

Nr. 1012 :	J_{M-SMZ}	=	5,0 %
Nr. 1014 :	"	=	5,0 %
Nr. 1015 :	"	=	3,0 %

Der J_{M-SMZ} des n i c h t ÄNH-exponierten Kontrollpräparates Nr. 1016 betrug 4,8 % und entsprach damit den Werten der exponierten Tiere.

Abb. 42 zeigt einen Ausschnitt aus der subependymalen Matrixzone von Nr.1016. Die an dieser Stelle besonders starke proliferative Aktivität ist an den zahlreichen markierten, vorwiegend in Gruppen beieinander gelagerten Zellen (➤) deutlich zu erkennen.

Abb.42

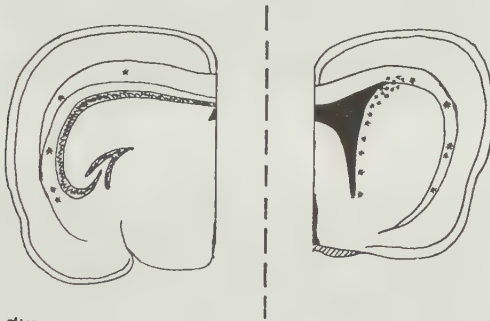


- Auf den Frontalschichten waren die markierten Zellen nicht gleichmäßig in der subependymalen Matrixplatte verteilt, sondern nahmen vom Fuß des SV-Vorderhorns zu dessen oberer Umschlagsfalte an Häufigkeit zu (siehe untenstehende Skizze).

Regelmäßig konnte im Winkel zwischen Nucl. caudatus u. Corpus callosum ein Einstrahlen markierter Zellen in die angrenzenden Balkenabschnitte beobachtet werden - sowohl in den Frontal- als auch in den Horizontalschnitten (s.u. Skizze u. Abb.43).

Vereinzelte waren auch noch in den peripheren Ausläufern des Corpus callosum und im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation markierte, also teilungsaktive Gliazellen nachweisbar (s.u. Skizze). Diese Beobachtung konnte sowohl bei den Kanzerogen-exponierten Tieren als auch im Kontrollpräparat Nr.1016 (Abb.44) gemacht werden.

Außerhalb der genannten Regionen waren bei orientierender Durchmusterung der Präparate keine markierten Zellen nachweisbar. Abgesehen von den tumorösen Arealen waren mitotisch-aktive Gliazellen nur in der Subependymalzone der Vorderhörner, im Winkel zwischen Nucl. caudatus u. Corp. callosum, im Balken sowie im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation anzutreffen. Diese Beobachtung korreliert deutlich mit den beschriebenen Tumor-Vorzugslokalisationen (s.S. 151 ff.), mögliche Zusammenhänge werden später noch zu diskutieren sein.



- Skizze -

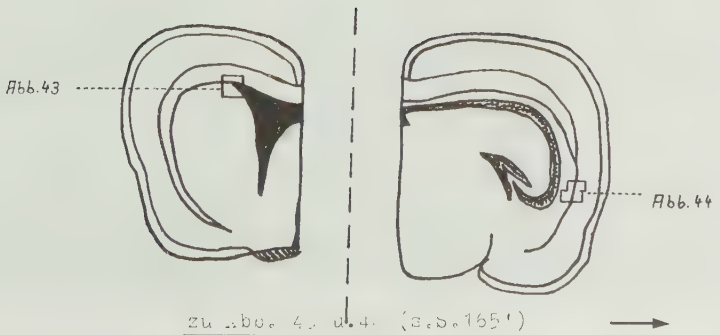




Fig. 43



Fig. 44

III Zusatzbefunde:

1) Neurogene Tumoren außerhalb des Gehirns:

Insgesamt wurden bei 12 Ratten 14 Nervensystem-Tumoren außerhalb des Gehirns gefunden (unter Einbeziehung der Meningealtumoren): 5 RM-Gliome, 5 Trigeminstumoren, 2 Plexustumoren, 2 Meningealtumoren. Im folgenden sollen diese Geschwülste kurz einzeln dargestellt werden:

Rückenmarks-Tumoren:

Nr. 1006: Ausgedehnter, vorwiegend im Hinterstrang-Bereich entwickelter Tumor, histologisch: Glioblastom, abschnittsweise auch perivasale zellfreie Höfe wie bei Ependymom (s.a.S. 88).

Nr. 1009: Das gesamte zervikale RM durchsetzender Tumor mit Einbruch in die Leptomeninx (Meningeosis gliomatosa), vermutlich nach intrakraniell metastasierend (s.S. 114, Nr.1009/II; S. 151). - Histologisch: Malignes Gliom, vereinzelt perivasale zellfreie Höfe wie bei Ependymom.

Nr. 1019: Das zervikale und lumbale Rückenmark ist in mehreren Abschnitten von einem malignen gliomatösen Geschwulstgewebe durchsetzt, welches stellenweise in die Leptomeninx durchgebrochen ist. Hier setzt es sich über den gesamten Spinalbereich fort und umhüllt das RM von zervikal bis lumbal in Form einer Meningeosis gliomatosa (Abb.45a,Abb.45b).

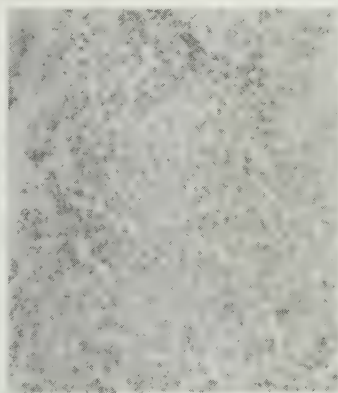
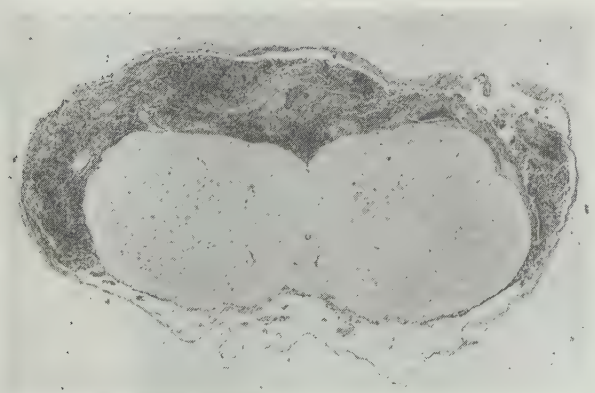


Abb.45 a,

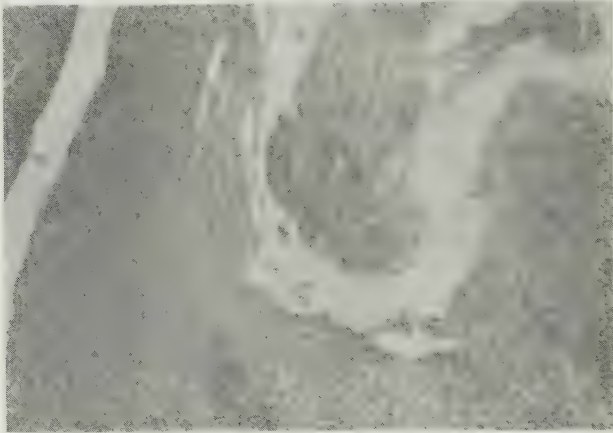
b,

Nr. 1021: Intramedulläres Gliom zwischen BWK₇ u. LWK₃ (s.a.S.97). - Histologisch: Ependymom.

Nr. 1023: Intramedullärer Tumor (HWK₇ - BWK₈) mit stärkeren regressiven Veränderungen (s.a.S. 98). - Histologisch: Malignes Gliom, mit typischen Merkmalen eines "Glioblastoms".

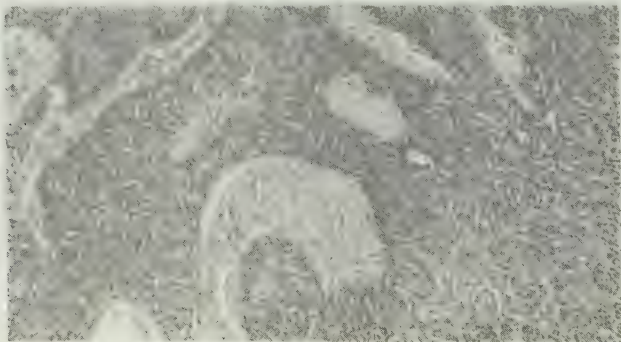
Trigeminus-Tumoren:

Nr. 1008: Kleinzelliges undifferenziertes Sarkom des N. trigeminus, Sarkomatose der basalen Liquorzisternen (Abb. 46).



Nr. 1011: Ausgedehntes Neurosarkom des linken N. trigeminus, über den Ramus ophthalmicus bis in das Auge und in den Fasc. opticus dieser Seite infiltrierend (s.a.S. 91).

Nr. 1018: Zellreicher, teils neurinomartiger ("Palisadenstellung"), teils meningeomartiger ("Zwiebelschalenformation") Tumor des rechten N. trigeminus (Abb. 47).



Nr. 1020: Neurofibrosarkom beider Nn. trigemini. Der linksseitige Tumor infiltriert bis in den Hirnstamm und bildet hier einen epithelartig ausgekleideten, zystischen Hohlraum (Abb. 48).



Plexus-Tumoren:

Nr. 1007: Zystisches Neurosarkom des Pl. lumbosacralis (Abb. 49; H.a.S. 85).



Nr. 1017: Zystisches Neurofibrosarkom des linken Pl.brachii (s.a.S. 93).

Meningeal-Tumoren:

Nr. 1018: Neben dem bereits beschriebenen Trigeminstumor fand sich hier eine tumoröse Verdickung der Meningen, welche sich feinhistologisch als Sarkomatose der Pachymeninx (stellenweise auch Leptomeninx) im Haubenbereich darstellte. Abb.50 zeigt die sarkomatöse Verdickung der den Sinus sagittalis umgebenden Meningen.



Abb.50

Nr. 1024: Spindelzelliges Meningeal-Sarkom, zell- u.gefäßreich, entlang der Gefäße in den Cortex infiltrierend (Abb.51a). Der Tumor hat die Kalotte arrodirt und ist nach extrakraniell durchgebrochen (s.Abb. 18 a-g, S.100). Hier ist er überwiegend zystisch (Abb. 51b).



Abb.51 a,



b,

2) Tumoröse Neubildungen außerhalb des Nervensystems:

Neben den experimentell induzierten Tumoren des Nervensystems kam es bei 6 Ratten in e x t r a n e u r a l e n Organen zu 7 tumorösen Neubildungen, für welche zumindest teilweise ein kausaler Zusammenhang mit der ÄNH-Exposition anzunehmen ist:

- Nr. 1011: Leukämie mit Meningeosis leucaemica, Milztumor u. Priapismus (s.a.S. 92, Abb.12 a-d).
- Nr. 1022: Fibroadenom der Mamma
- Nr. 1027: 1. Faserreiches Fibroadenom der Mamma
2. Zystisch veränderte Hautanhangsdrüse (Tumor ?)
- Nr. 1028: Unilokuläres zystopapilläres Adenom (Tumor ?)
- Nr. 1024: Verhornendes Plattenepithel-Carcinom der linken Lunge (Abb.52)
- Nr. 1031: Verhornendes Plattenepithel-Carcinom (?), vermutlich vom Ohr ausgehend. Die Geschwulst war nach intrakraniell durchgebrochen und in Kleinhirn, Hirnstamm u. N. trig. infiltriert. Das vorwiegend aus großen, blasigen Zellen aufgebaute Gewebe zeigte eine epidermale Differenzierung mit Ausbildung von Hornperlen und war zentral in einem größeren Bereich nekrotisch zerfallen. Außerdem fand sich eine leukozytäre Reaktion in den Randbezirken, die angrenzenden Meningen erschienen blastomatös verändert. - Siehe Abb. 53.
Differentialdiagnostisch war hier auch an das Vorliegen eines Cholesteatoms zu denken.

Abb. 52

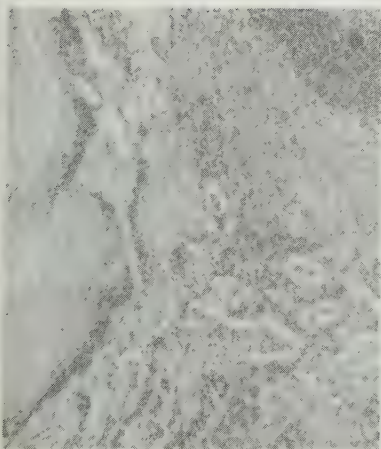
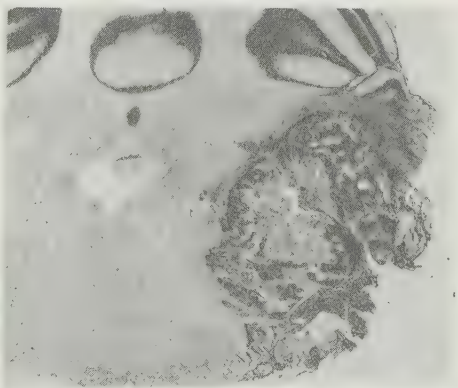


Abb. 53



Außerdem entwickelte sich bei Muttertier Nr.3010 ein faserreiches Fibroadenom der Mamma. Ein kausaler Zusammenhang mit der intra graviditatem stattgefundenen ANH-Exposition ist jedoch angesichts der relativ hohen Spontaninzidenz von Mammatumoren bei weiblichen Ratten nicht sicher. Dieses gilt auch für die oben beschriebenen Fibroadenome Kanzerogen-exponierter Nachkommen und wird sowohl durch Angaben in der Literatur als auch durch eigene Beobachtungen spontaner Mammatumoren bei nicht-exponierten Weibchen gestützt (s.u.).

Tumoren bei nicht ANH-exponierten Ratten:

Zwei bereits ältere weibliche Tiere (Nr.n.3013 u.3017) entwickelten während des laufenden Experiments Fibroadenome der Mamma.

Als besonders bemerkenswert darf noch das Auftreten eines spontanen Neurofibrosarkoms bei einer männlichen Ratte (Zuchtbock Nr.3024) bezeichnet werden. Dieses Tier hatte ohne vorherige Kanzerogenexposition im Verlaufe von 8 Tagen eine schlaffe Lähmung beider Hinterläufe entwickelt, die Symptomatik war den bei Ratten mit experimentell-induzierten Plexus- bzw. RM-Tumoren beobachteten Ausfällen sehr ähnlich.

Die Sektion ergab 2 große Geschwulstknoten von jeweils etwa 2,5 cm Durchmesser, welche ventral-paravertebral unter der Psoasmuskulatur gelegen und über eine dünne praevertebrale Gewebsbrücke miteinander verbunden waren. Der eine Knoten zeigte eine zystische Konsistenz mit relativ frischen Einblutungen, der andere war solide. Einige lumbale Spinalnerven strahlten in die Tumorkapsel ein und verschwanden im Geschwulstgewebe. Der makroskopische Aspekt war somit dem bei Nr.1007 erhobenen Befund (zyst. Plexustumor) sehr ähnlich. Die histologische Untersuchung konnte ein zystisches Neurofibrosarkom nachweisen, welches im wesentlichen den experimentell induzierten Plexustumoren entsprach (Abb. 54).



4) Intrakranielle Abszesse:

Bei 2 Ratten hatten sich intrakranielle Abszesse entwickelt, welche vermutlich auf Grund ihrer raumfordernden Wirkung schließlich zum Tode der Tiere führten (s.S. 101). Da sich in beiden Fällen bei der Präparation massenhaft Eiter aus dem Felsenbein der betreffenden Seite entleerte, waren die Abszesse als otogen-fortgeleitet zu betrachten. - Labyrinthäre Infektionen waren überhaupt relativ häufig bei allen Ratten (exponierten bzw. nicht-exponierten) zu beobachten.

Nr. 1025: Großer solitärer Abszeß, der sich von temporobasal komprimierend gegen die linke Hemisphäre vorwölbt.

Nr. 1026: Multiple kleinere Abszeßknoten, oberflächlich dem Cortex der gesamten rechten Hemisphäre aufgelagert und diese erheblich komprimierend. Entlang der Gefäße kommt es zur Infiltration entzündlicher Zellelemente (Abb. 55a);

1 Abszeßknoten ist in der Tiefe des Marklagers entwickelt, umgeben von perivaskulären entzündlichen Veränderungen (Abb. 55b). Im Granulationsgewebe finden sich reichlich Schaumzellen, die angrenzenden Hirnhäute sind im Sinne einer Begleitmeningitis verändert.

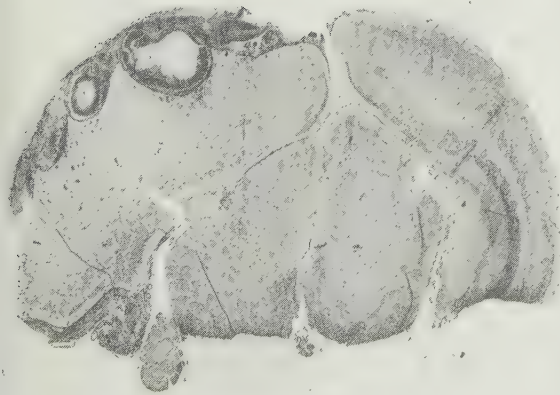
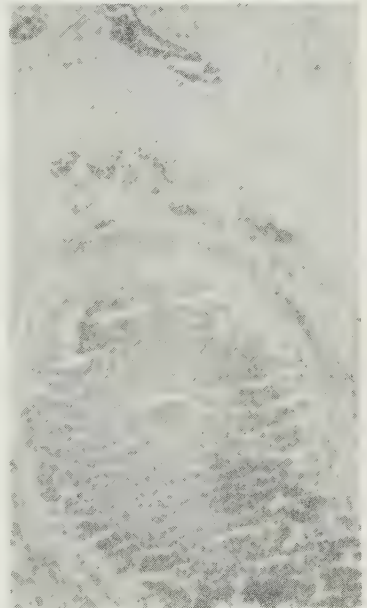


Abb. 55 a,



b,

5) Mißbildungen:

Schließlich sei noch auf 3 Fälle hingewiesen, in denen eine möglicherweise mit der teratogenen Wirkung des ÄNH in Zusammenhang stehende Hemmungs-Mißbildung beobachtet werden konnte:

Nrn. 1004 u. 1014:

2 männliche Ratten aus 1 Wurf, bei welchen ein persistierender Urachus bestand (s.a.S. 87 u.S. 93).

Nr. 1026: Bei diesem Tier bestand eine angeborene Schwanzverkürzung (s.a.S.101).

E/ Diskussion:

I Diskussion der diaplazentaren Tumorerzeugung:

Die experimentelle Erzeugung neurogener Tumoren bei der Ratte auf diaplazentarem Wege ist eine seit langem erprobte Methode der Resorptivkanzerogenese, die sich als besonders geeignet erwiesen hat. Bevorzugt verwendet wird hierbei das Nitrosoharnstoff-Derivat ÄNH.

Die hervorragende Eignung dieser Versuchsanordnung (ÄNH-Exposition der trächtigen Ratte) zur neurogenen Geschwulsterzeugung beruht auf mehreren Faktoren: geringer experimenteller Aufwand und geringe Störanfälligkeit der Methode, hohe Tumorzinzidenz bei niedriger Kanzerogendosis und damit geringer Toxizität, selektiv-neurotrope Tumorzinduktion. - Außerdem wird durch die nahezu vernachlässigbare Spontaninzidenz neurogener Geschwülste bei den verwendeten BD-Ratten die Aussagekraft experimenteller Untersuchungen erhöht.

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte diese Form der neurogenen Tumorerzeugung als besonders geeignet bestätigt werden. Bei allen vier intra graviditatem ÄNH-exponierten Ratten waren keine nachteiligen Auswirkungen auf den weiteren Schwangerschaftsverlauf zu erkennen, die neugeborenen, normal ausgetragenen Tiere wurden sofort angenommen und ohne Schwierigkeiten genährt. Der Tod des bis dahin unauffälligen Muttertiers Nr.3020 kurz nach dem Wurf war offenbar unmittelbare Folge eines starken Blutverlustes während des Geburtsvorganges, ein Zusammenhang mit der Kanzerogenexposition war nicht ersichtlich.

Bei 26 von 28 intrauterin Kanzerogen-exponierten Ratten entwickelten sich neurogene Tumoren. Dies entspricht einer Inzidenz von 93%. Andere Untersucher kamen unter vergleichbaren Bedingungen zu ähnlichen Ergebnissen:

- 86 % (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968)
- 88 % (H.M.CRAVIOTO et al., 1974)
- 90 % (D.SCHMÄHL et al., 1974)
- 94 % (A.KOESTNER et al., 1972)

Insgesamt konnten 122 neoplastische Prolifere nachgewiesen werden, dies bedeutet eine mittlere Tumorzinzidenz von 4,7 pro Tier. Dieser Wert liegt wesentlich über den Befunden anderer Autoren -

D.SCHMÄHL et al., 1974: 1,9 pro Tier

J.A.SWENBERG et al., 1972a: 2,4 pro Tier -

und muß auf die große Anzahl von Hirntumoren ($n = 108$) zurückgeführt werden. Diese wiederum kommt dadurch zustande, daß mit der Stufenschnitt-Methode zum einen auch kleinste blastomatöse Proliferate erfaßt wurden und zum anderen die einzelnen Geschwulstzentren der offenbar häufig multizentrisch angelegten, zu späterer Konfluenz neigenden Gliome jeweils noch als voneinander getrennt erfaßt wurden. - Auf das Phänomen der Konfluenz mehrerer Proliferationszentren zu einem größeren Tumor wird später noch einmal näher einzugehen sein.

Da die von den anderen Untersuchern angegebenen Geschwulsthäufigkeiten nicht in gleicher Weise durch Hirn-Serienschnitte nachgewiesen wurden, sondern meist auf der Beobachtung makroskopisch entwickelter Tumoren beruhen, ist ein Vergleich nicht ohne weiteres möglich. Diejenigen Arbeiten aber, welche sich ebenfalls der Stufenschnitt-Technik bedienen, beschränken ihre Untersuchungen nur auf die Gehirne j u n g e r Tiere, so daß auch hier keine vergleichbaren Bedingungen vorliegen (P.L. LANTOS u.D.J.COX, 1976; P.L.LANTOS, 1977; D.SCHREIBER et al., 1977), oder aber sie verzichten auf die Angabe genauer Inzidenzraten (D. SCHIFFER et al., 1978).

Werden alle in enger Nachbarschaft zueinander lokalisierten Proliferate, welche eine spätere Konfluenz als wahrscheinlich vermuten lassen, zu jeweils 1 Tumor zusammengefaßt, so ergibt sich eine Gesamtzahl von 77 Hirntumoren (3,1 pro Tier) bzw. von 91 neurogenen Geschwülsten insgesamt (3,5 pro Tier).

14 Tumoren des Nervensystems waren außerhalb des Gehirns lokalisiert (5 RM-Gliome, 5 Trigeminstumoren, 2 Neurosarkome peripherer Plexus und 2 Meningealsarkome). Für die Rückenmarksgliome entspricht diese Häufigkeit (5 von 28 Ratten = 18%) den Angaben aus der Literatur:

- 11 - 24 % (H.M.CRAVIOTO et al., 1974)
- 19 % (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968)
- 18 % (J.A.SWENBERG et al., 1972a)

Deutlich seltener als in den Arbeiten anderer Autoren sind jedoch die Tumoren des PNS (7%) und des Trigemiusnerv (14%):

- | | | | |
|--------------------------------|---|---------------|-------------------|
| H.M.CRAVIOTO et al., 1974 | - | PNS: 24 - 47% | N.trig.: 20 - 61% |
| S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968 | - | PNS: 19 % | N.trig.: 29% |
| J.A.SWENBERG et al., 1972a | - | PNS: 29 % | N.trig.: 29% |

Dies muß zumindest teilweise darauf zurückgeführt werden, daß die 8 für den Autoradiographieversuch bestimmten Tiere relativ frühzeitig getötet und bei ihnen nur die Gehirne einer genauen Tumorsuche

unterzogen wurden. Möglicherweise wäre es bei der einen oder anderen dieser Ratten im weiteren Verlauf noch zu einer Geschwulstbildung in den genannten anderen neuralen Strukturen gekommen.

Bemerkenswert erscheint die Entwicklung m e n i n g e a l e r Tumoren bei 2 Ratten (7%), da Geschwülste dieser Provenienz in der Literatur nur sehr selten angegeben werden. So konnten die oben wiederholt zitierten Autoren unter vergleichbaren Bedingungen keinen einzigen Meningealtumor beobachten. Von H.DRUCKREY (1970a) wurden nach transplazentarer Applikation der doppelten ÄNH-Dosis ebenfalls 2 Meningealsarkome bei 30 Ratten (i.e. 6,6%) beschrieben, insgesamt stellen diese Geschwülste aber doch eine Rarität dar. K.J.ZÜLCH (1971) weist besonders auf das nahezu völlige Fehlen benignen Meningeome unter den tierexperimentellen Tumoren hin.

Die extrazerebralen Geschwülste wirkten in allen Fällen (mit Ausnahme des Meningealtumors Nr.1018) verlaufsbestimmend, die durch sie hervorgerufenen neurologischen Ausfallerscheinungen, die intrakranielle Drucksteigerung oder eine allgemeine Tumorkachexie führten schließlich den Tod des Tieres herbei. - Hierin zeigt sich ein gewisser Nachteil der diaplazentaren Erzeugung neurogener Tumoren, da diese Methode zu einer asynchronen Entwicklung verschiedener Geschwulstarten mit variierenden Wachstumsraten und unterschiedlicher Lokalisation innerhalb des Nervensystems führt, wodurch die genaue Beobachtung einer bestimmten Tumorart (z.B.Hirngeschwülste) beeinträchtigt werden kann. Auf diese Problematik weisen auch D.SCHIFFER u.Mitarb. (1978) hin. - Planung und Ablauf der vorliegenden Untersuchungen waren dadurch jedoch nicht nachteilig beeinflusst, da die für den Autoradiographiever such ausgewählten Tiere hiervon unbeeinträchtigt zu den vorgesehenen Terminen getötet und auch die Gehirne der übrigen Ratten wie beabsichtigt nach unterschiedlich langen Lebensspannen (zwischen 7. und 24.Lebensmonat) untersucht werden konnten - wenngleich hierbei keine ganz gleichmäßigen zeitlichen Intervalle einzuhalten waren.

Bei 6 Ratten konnten außerdem tumoröse bzw. tumorartige Neubildungen in e x t r a n e u r a l e n Organen nachgewiesen werden, für welche zumindest teilweise ein kausaler Zusammenhang mit der ÄNH-Exposition anzunehmen war (2 Mammatumoren und 2 zystisch veränderte Milchdrüsen ohne sichere neoplastische Eigenschaften, 2 Plattenepithelkarzinome, 1 Leukämie). Hiermit lag die Inzidenz extraneuraler Tumoren bei rd.18 %. Ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersucher zeigt ähnliche Werte:

J.A.SWENBERG et al., 1972a:	extraneurale Tumoren in	29 %
D.SCHMÄHL et al., 1974:	" "	in 19 %

Besonders zu erwähnen bleibt noch die Beobachtung eines s p o n -
t a n e n N e u r o f i b r o s a r k o m s des PNS im Retroperi-
tonealraum eines nicht ÄNH-exponierten Tieres. Die Entwicklung die-
ses Tumors ist umso bemerkenswerter, als offenbar spontane Geschwül-
ste peripherer Nerven bei der Ratte ausgesprochen selten sind:
H.LUGINBÜHL u.Mitarb. (1968) erwähnen in einer umfangreichen Zusam-
menstellung von Spontangeschwülsten des NS im Veterinärbereich kei-
nen einzigen Tumor dieses Typs bei der Ratte; Neurinome fehlen auch
in dem großen Sektionsgut von J.E.FITZGERALD et al.(1974). L.TOMATIS
u.Mitarb. (1977) beschreiben eine männliche Ratte, welche im Alter
von 2 Jahren mit einem von einer Nervenwurzel ausgehenden Neurinom
verstarb.

In 3 Fällen konnte eine möglicherweise auf die teratogene Wirkung des
ÄNH zurückzuführende Hemmungsmißbildung beobachtet werden: eine ange-
borene Schwanzverkürzung, zwei Ratten mit persistierendem Urachus. -
Diese Art von Fehlbildungen nach diaplazentarer Kanzerogeneinwirkung
wird in den einschlägigen Untersuchungen nicht genannt: H.DRUCKREY
(1973a) und V.A.ALEXANDROV u.W.JÄNISCH (1971) beschreiben Schädel- und
Hirnmißbildungen, Anophthalmie, Gaumenspalten und Skelettdeformitäten
an den Gliedmaßen.

II Diskussion der lichtmikroskopischen Ergebnisse:

Die zentrale Fragestellung der Arbeit war auf das Wachstumsverhalten
der diaplazentar induzierten G e h i r n -Tumoren gerichtet, unter
besonderer Berücksichtigung ihrer Frühstadien. Hierzu waren 2 Maßnah-
men erforderlich:

1. das Töten der Tiere nach unterschiedlich langen Lebensspannen, um
so die Möglichkeit einer gewissen z e i t l i c h e n L ä n g s -
s c h n i t t -Beobachtung der Tumorentwicklung zu erzielen;
2. das mikroskopische Aufarbeiten der Gehirne in eng benachbarten
Stufenschnitten, um so einen möglichst genauen Überblick über alle
im Hirnpräparat entwickelten neoplastischen Proliferate und deren
biologisches Verhalten (z.B.Ursprung, Größe, histologischer Aufbau)
zu gewinnen und um v.a. auch die blastomatösen F r ü h s t a -
d i e n zu erfassen.

Als Schnittabstand wurden 60 bzw. 120 μ m gewählt. Dies erwies sich als
ausreichend auch zur Darstellung kleinster neoplastischer Proliferate;
der niedrigste gemessene Durchmesser betrug 150 μ m.

Aus technischen Gründen war es nicht möglich, die Gehirne jeweils en bloc in Stufenschnitte zu zerlegen. Sie mußten vor der Paraffin-Einbettung in mehrere Segmente zerteilt werden und waren erst dann endgültig zu schneiden ^{*)}. Dadurch ging an den Anschnitten jeweils ein gewisser Teil des Hirngewebes für die mikroskopische Auswertung verloren; deren Aussagekraft wird infolgedessen etwas eingeschränkt.

Um die nachgewiesenen blastomatösen Proliferate genauer beschreiben zu können, wurde eine Unterteilung in 4 Tumorstadien vorgenommen. Hierzu boten sich 2 verschiedene Kriterien an

- der Tumordurchmesser (Größe)
- das Proliferationsverhalten (Histologie).

Beide wurden in die Beurteilung einbezogen.

Die Bestimmung der Tumorgröße erwies sich v.a. bei den Frühstadien oft als sehr schwierig (s.a. P.L.LANTOS u.G.J.PILKINGTON, 1979), da deren Form starken Variationen unterworfen war, welche vom Idealfall der Kugelgestalt weit abwichen und offenbar durch strukturelle Gegebenheiten am Ort des Geschwulstwachstums determiniert wurden. Dies gilt besonders für die kleinen Tumoren im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation, welche in der Regel schalenförmig an das Ammonshorn angelagert sind und sich im mikroskopischen Schnitt dementsprechend schmal und langgestreckt darstellen. Nur die größeren und die im Stammganglien- u. Hirnstammbereich lokalisierten Neoplasmen nehmen am ehesten eine sphärische Gestalt an - bei letzteren auch bereits die frühen Entwicklungsstadien - und ermöglichen somit eine genauere Größenbestimmung.

Die Orientierung am histologischen Bild als Kriterium des Tumorstadiums folgt den Ausführungen von C.THOMAS u.G.KERSTING (1964), welche das Auftreten iso-, hetero- und pleomorpher Züge als eine zeitabhängige Eigenschaft ein- u. derselben Geschwulstart charakterisieren und damit zum Ausdruck bringen wollen, daß jeder Tumor während seiner Entwicklung die betreffenden Stadien durchläuft.

Für die in der vorliegenden Arbeit getroffene Stadieneinteilung wurde unterschieden zwischen "frühen neoplastischen Proliferationen", "Mikrotumoren" und "Makrotumoren" (FNP, Mik, Mak). Bei der erstgenannten Gruppe erschien eine Differenzierung in 2 Unterstadien erforderlich, um damit der in dieser Anfangsphase neoplastischen Wachstums häufig zu beobachtenden Diskrepanz zwischen Flächenausdehnung und Proliferations-

^{*)}Die Horizontal-Schnitte waren hiervon nicht betroffen.

verhalten Rechnung zu tragen. Dies bedarf kurz noch einer näheren Erläuterung: Die tumorösen Frühstadien zeigten häufig das Bild weitmaschig verteilter Tumorzellen inmitten eines durch "Metachromasie" und Auflockerung der Grundsubstanz sichtbar veränderten Areals. Die Flächenausdehnung wurde oft durch Konfluenz mehrerer derartiger Herde noch erhöht. Hinsichtlich der Proliferatgröße hatte dieses Verhalten natürlich eine große Variationsbreite aller Frühstadien zur Folge, welche die genannte Unterteilung erforderlich machte.

-FNP₁: kleinster umschriebener Herd isomorpher Tumorzellen

-FNP₂: in der Ausdehnung größeres Proliferat, oft durch Konfluenz bedingt; histologisch ebenfalls ohne Zeichen einer erhöhten Wachstumstendenz;

Ihr wegen der bereits beschriebenen Formvarianten oft nur schwer zu bestimmender Durchmesser (resp.Längsachse) schwankte zwischen 150 und 1900 μm .

-Als "Mikrotumoren" wurden Proliferate mit erhöhter Zellzahl und gesteigerter Wachstumsneigung bezeichnet, welche jedoch noch keine raumfordernde Wirkung oder Entartungstendenz erkennen ließen. Ihr Durchmesser reichte von 700 bis 2400 μm .

-Fortgeschrittene Geschwülste mit raumfordernden Ausmaßen und den Zeichen fortgeschrittener Entartung wurden der Kategorie der "Makrotumoren" zugerechnet, ihr Durchmesser schwankte zwischen 2000 und 4700 μm .

Diese Stadieneinteilung erwies sich als notwendig und geeignet zur näheren Beschreibung der experimentellen Tumoren, außerdem ließ sie gewisse Gesetzmäßigkeiten des Wachstums und histologischen Verhaltens gliogener Geschwülste genauer hervortreten. Eine Beschränkung der Stadiendefinition auf das Kriterium des Tumordurchmessers war unzureichend - wie die deutlichen Überschneidungen in diesem Bereich zeigen - , wesentlicher noch erschien die Berücksichtigung des histologischen Bildes als Ausdruck des jeweiligen Proliferationsverhaltens. Beide Parameter zeigten allerdings in der Regel eine gleichgerichtete Entwicklung, d.h. mit zunehmendem Alter und Durchmesser wiesen die Tumoren eine gesteigerte Wachstumstendenz und Pleomorphie auf - wie u.a. von C.THOMAS u.G.KERSTING (1964) und von D.SCHIFFER u.Mitarb. (1971) beschrieben.

Durch diese zusätzliche Berücksichtigung proliferativer Eigenschaften weichen die eigenen Durchmesser-Grenzwerte von den Literaturangaben ab:

z.B. frühe neoplastische Proliferationen: bis 1 mm Durchmesser
Mikrotumor: bis 4 mm Durchmesser
Makrotumor: ab 4 mm " "
(nach J.A.SWENBERG et al., 1972c und
M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975)

Mehr als 2/3 (70 %) aller zerebralen Neoplasmen waren den genannten Kriterien gemäß als Frühstadien einzuordnen, 25% waren Mikrotumoren und 5% Makrotumoren. Dieser hohe Anteil früher blastomatöser Proliferate ist zum einen sicherlich Folge einer größeren Nachweisgenauigkeit der Stufenschnitt-Technik (unter gleichen Bedingungen gewonnene Ergebnisse fehlen in der Literatur), zum anderen ist ein Zusammenhang mit der relativ niedrigen Kanzerogendosis zu vermuten (Dosis-Abhängigkeit der Entwicklungslatenz !).

Mit steigendem Lebensalter der Tiere (zum Zeitpunkt des Tötens) zeigte der mittlere Tumordurchmesser eine Zunahme, welche einerseits auf das Wachstum des Einzelherdes, andererseits auf Konfluenz mehrerer kleiner Foci zu einem größeren Tumor zurückzuführen war.

Bemerkenswert ist der Nachweis kleinster Tumorzellnester auch bei alten Ratten. Mehrere Möglichkeiten wären hier zu diskutieren:

- 1) Diese Tumorzellen haben ihre proliferative Aktivität stark eingeschränkt bzw. ganz eingestellt - hierfür spräche z.B. das häufigere Auftreten von Proliferaten ohne nachweisbare Teilungsaktivität im Autoradiographieversuch ($J_M = 0$) bei der älteren Versuchstiergruppe (s.u.).
- 2) Die Realisierung der neoplastischen Potenz der während der Fetalperiode kanzerogen-transformierten Tumormutterzelle hat erst kurz vor dem Tötungszeitpunkt stattgefunden.
- 3) Die hier verwendete, relativ niedrige ANH-Dosierung ist angesichts der durch verschiedene Autoren nachgewiesenen Dosis-Abhängigkeit von Geschwulstwachstum und Tumoraltenz (S.IVANKOVIC u.H.DRUCKREY, 1968; H.H.SCHMIDEK et al., 1971; J.A.SWENBERG et al., 1972a) Ursache für die Beobachtung blastomatöser Frühstadien auch noch bei alten Tieren. Es ist anzunehmen, daß der hohe Prozentsatz von Tumorfrühstadien zumindest teilweise ein D o s i s -abhängiges Phänomen darstellte.

Als besonderes Merkmal diaplazentarer Hirntumorerzeugung muß das Auftreten multipler, im eigenen Untersuchungsmaterial zu späterer K o n f l u e n z neigender Geschwulstherde hervorgehoben werden. Die bei jüngeren Tieren mit Hilfe mikroskopischer Stufenschnitte eindeutig noch als getrennt nachweisbaren Zellfoci konnten als die primären Wachstumszentren m u l t i f o k a l angelegter Gliome betrachtet werden.

Durch die Untersuchung der Rattengehirne nach verschieden langen Lebensspannen war es möglich, einzelne Phasen mit unterschiedlich weit fortgeschrittener Konfluenz darzustellen. Dieses Phänomen war an bestimmte Vorzugslokalisationen gebunden, in erster Linie konnte man es in der Hippocampusformation antreffen. Offenbar ist dort die Anzahl neoplastisch transformierter Zellen nach diaplazentarer Kanzerogenexposition besonders hoch, so daß hier viele Geschwulstzentren eng benachbart liegen, wo sie dann durch Zusammenfließen zu einer raschen Geschwulstvergrößerung beitragen. Dies wird durch die Beobachtung unterstützt, daß die großen Tumoren nahezu ausschließlich in Hippocampus-nahen Abschnitten der Temporalregion lokalisiert waren. Zusätzlich wird die Bedeutung der Konfluenz als ein wesentlicher Faktor der Größenzunahme experimenteller Gliome dadurch unterstrichen, daß außerhalb der Tumor-Vorzugslokalisationen (i.e. an Orten mit primär niedriger Geschwulstzell-Häufigkeit) entwickelte Neoplasmen auch bei alten Tieren noch relativ klein ausgebildet waren.

Will man die Tumorzinidenzen unterschiedlich alt gewordener Tiere miteinander vergleichen, so muß dieser Vorgang der Proliferatverschmelzung berücksichtigt werden, da in den Gehirnen frühzeitig getöteter Ratten infolge der noch nicht erfolgten Konfluenz entsprechend mehr Einzeltumoren nachweisbar sind als bei später untersuchten Tieren. Durch Zusammenfassung sämtlicher eng benachbarter Proliferate läßt sich dieser altersabhängige Störfaktor eliminieren. Unter Anwendung dieser Korrektur konnte gezeigt werden, daß die Gehirne aller Altersstufen in etwa die gleiche Tumorzinidenz aufwiesen.

Die 108 diaplazentar erzeugten Hirntumoren *) waren alle g l i o - g e n e n Ursprungs. Ihr histologisches Spektrum umfaßte Mischgliome (26%), Oligodendrogliome (23,2%), undifferenzierte Gliazell-Proliferate der Astrozyten- u. Oligodendrozyten-Reihe (23,2% bzw. 20,4%), "Glioblastome" (1,8%), ein Astrozytom (0,9%), ein Proliferat aus Zellen der subependymalen Matrixzone (0,9%) und ein Ependymom (0,9%).

*) ohne die beiden Meningealtumoren

Der prozentuale Anteil der Mischgliome entspricht den Angaben anderer Autoren, welche unter ähnlichen Versuchsbedingungen heteromorphe Gliome in einer Häufigkeit von 25 - 35 % finden (H.M.CRAVIOTO et al., 1974; A.KOESTNER et al., 1971; M.A.RAMADAN u.W.WECHSLER, 1975; J.A.SWENBERG et al., 1972a).

Oligodendrogliome werden in der Literatur mit 30 - 46 % wesentlich häufiger genannt (J.A.SWENBERG et al., 1972a; E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1972), lediglich bei H.M.CRAVIOTO u.Mitarb. (1974) machen sie nur 8,3 % der Hirntumoren aus.

Die letztgenannten Autoren finden hingegen Astrozytome in etwa der Hälfte der Fälle, auch von den anderen Untersuchern wird dieser Gliomtyp in höherer Inzidenz nachgewiesen (4,0 - 13,3 %).

Das vergleichsweise seltenere Auftreten von Oligodendrogliomen und Astrozytomen in der vorliegenden Arbeit muß mit den zahlreichen u n d i f f e r e n z i e r t e n Tumoren gliogener Herkunft erklärt werden. Diese blastomatösen Proliferate bestanden zumeist aus Gliazellen, welche nicht eindeutig einem der beiden o.g. histologischen Typen zugeordnet werden konnten und deren mögliche Ausdifferenzierung in die eine oder andere Richtung offen bleiben mußte. Die Schwierigkeit einer genauen histologischen Typisierung trat v.a. bei den Frühstadien auf, die ihrerseits rd. 68 % aller Tumoren ausmachten und von welchen wiederum 62 % eben jenen undifferenzierten Gliomen zuzurechnen waren. Im Anfangsstadium neoplastischen Wachstums waren die Geschwulstzellen meist relativ weitmaschig verteilt und zeigten noch nicht die charakteristischen Gewebsstrukturen zellreicher Tumoren - wie z.B. die "Honigwabenn"-Struktur der Oligodendrogliome -, welche sonst eine Zuordnung erleichtern.

Insgesamt konnte bei den Frühstadien das Überwiegen isomorpher Gewebsbilder bestätigt werden, auf welches von vielen Autoren hingewiesen wird. Auch waren die für frühe oligodendrogliomatöse Proliferationen typischen Zellanordnungen der perineuronalen "Satellitose" und "interfaszikuläre Hyperplasie" (E.GROSSI-PAOLETTI et al., 1970 u. 1972) häufig zu beobachten.

Mit der Zunahme von Geschwulstgröße und Alter der Tiere zeigte sich im histologischen Bild ein Übergang zu Pleomorphie und Mitosereichtum, wobei meist sowohl oligodendrozytäre als auch astrozytäre Komponenten beteiligt waren und keine sichere Aussage darüber zu treffen war, welche der beiden in der Geschwulst-Progression die führende Rolle spielen würde.

Die stadienhafte Fortentwicklung von isomorphen Frühstadien und Mikrotumoren zu zell- u. mitosereichen Geschwülsten mit dem polymorphen Geschwulstbild maligner Gliome, möglicherweise über die Formation gliogener Mischtumoren als Zwischenstadium, wird von C.THOMAS u.G.KERSTING (1964) und von D.SCHIFFER u.Mitarb. (1971) als ein morphogenetisches Charakteristikum experimenteller Gliome herausgestellt. G.KERSTING (1965) und H.H.SCHMIDEK et al. (1971) vergleichen das pleomorphe Endstadium dieser Tumoren mit den menschlichen Glioblastomen.

Besonders zu erwähnen sind noch die im Bereich der Seitenventrikel-Vorderhörner entwickelten Mischgliome, vorwiegend im Winkel zwischen Nucl.caudatus und Corp.callosum lokalisiert. An ihrem Aufbau war neben Astrozyten und Oligodendrozyten häufig eine undifferenzierte Gliazelle beteiligt, die der subependymalen Matrixzone zu entstammen schien. Auf die Bedeutung dieser Zellschicht für die Entstehung experimenteller Gliome wird vielfach hingewiesen (P.KLEIHUES et al., 1970b; P.L.LANTOS, 1976 u.1977; D.SCHIFFER et al., 1978); PILKINGTON und LANTOS vertreten die Auffassung, daß möglicherweise alle zerebralen Gliome von den undifferenzierten Zellen der Subependymschicht ausgehen. Diese mitotisch aktiven Stammzellen sind gegenüber kanzerogenen Reizen besonders empfindlich; das morphologische Bild der aus ihnen hervorgehenden Gliome ist geprägt durch unterschiedliche zelluläre Differenzierungsprozesse, die in einem Nebeneinander astro- und oligodendrozytärer Elemente sowie undifferenzierter Gliazellen resultieren (G.J.PILKINGTON u.P.L.LANTOS, 1979). Die eigenen Beobachtungen bezüglich dieser periventrikulären Mischgliome werden durch verschiedene Untersuchungen neueren Datums unterstützt, sowohl was ihre histologischen Kennzeichen anbelangt, als auch was ihre Vorzugslokalisationen - Außenseiten der Vorderhörner, Winkel zwischen Nucl.caudatus u.Corp.callosum - betrifft (P.L.LANTOS u.G.J.PILKINGTON, 1979; G.J.PILKINGTON u.P.L.LANTOS, 1979; D.SCHIFFER et al., 1978; K.TAOMOTO, 1976).

In diesem Zusammenhang soll nochmals auf die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen undifferenzierten "oligodendrozyten-artigen" bzw. "astrozyten-artigen" Zellen eingegangen werden, die am Aufbau vieler blastomatöser Frühstadien inner- u. außerhalb der Seitenventrikelregion maßgeblichen Anteil hatten. Möglicherweise handelt es sich auch bei ihnen um ursprünglich der subependymalen Matrixschicht entstammende Zellen, welche im Stadium mitotischer Aktivität dort kanzerogen

transformiert wurden und anschließend in andere Hirngebiete (entsprechend den Vorzugslokalisationen; s.u.) ausgewandert sind. Verschiedene experimentelle Befunde lassen sich dahingehend interpretieren: Von P.L.LANTOS u.D.J.COX (1976) wurden frühe neoplastische Proliferationen in der Seitenventrikelregion und im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation nachgewiesen - in letztgenannter Lokalisation fanden sich auch die meisten der eigenen undifferenzierten Frühstadien -, deren zelluläre Zusammensetzung lichtmikroskopisch nicht aufzulösen war. "... Die meisten (Zellen) schienen undifferenziert zu sein, während einzelne Zellen Merkmale aufwiesen, die an Astrozyten oder Oligodendrozyten erinnerten" (P.L.LANTOS u.G.J.PILKINGTON, 1979). Des weiteren sind LANTOS und PILKINGTON der Auffassung, daß die neoplastisch umgewandelten Zellen der Subependymschicht entweder am Ursprungsort verbleiben oder in die subkortikale Marksubstanz auswandern und dort jeweils ihre kanzerogenen Eigenschaften entfalten, wobei sie aufgrund ihrer Pluripotenz sich in den einen oder den anderen gliogenen Tumortyp bzw. in Mischgliome ausdifferenzieren können (P.L.LANTOS, 1977; G.J.PILKINGTON u.P.L.LANTOS, 1979). Gestützt wird diese Theorie durch Untersuchungen an nicht-kanzerogenexponierten Rattenhirnen, die mit Hilfe autoradiographischer Methoden ein Abwandern von Gliazellen aus der subependymalen Zone entlang dem Corpus callosum zu den Basalganglien und der Hippocampus-nahen Subkortikalregion nachweisen konnten (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1966; J.ALTMAN, 1966a).

Ausgehend von diesen Überlegungen läßt sich auch das Phänomen der Vorzugslokalisationen im Zusammenhang mit den undifferenzierten Zellen der subependymalen Matrixzone sehen und deuten, handelt es sich doch offenbar um solche Regionen, in welchen bereits unter normalen Bedingungen der Gliogenese diese für kanzerogene Reize besonders empfindlichen Zellen vermehrt auftreten. Hippocampus-Formation (40%), Seitenventrikel-Vorderhornregion (22%) und Stammganglien (13%) waren nach eigenen Befunden die führenden Tumorlokalisationen und vereinigten 3/4 aller Proliferate auf sich. Diese Ergebnisse werden größenordnungsmäßig in der Literatur bestätigt. In den genannten Hirnabschnitten war nicht nur die absolute Tumorzahl am höchsten, hier konnten auch die meisten multizentrisch angelegten und die größten (vorwiegend durch Konfluenz mehrerer benachbarter Geschwulstherde entstandenen) Gliome angetroffen werden. Auch dies ließe sich mit dem besonders häufigen Auftreten kanzerogen-transformierter

Glia-Stammzellen in eben jenen Regionen erklären, ebenso wie man umgekehrt die Beobachtung, daß die außerhalb der Vorzugslokalisationen in Cortex, Pons und Medulla oblongata entwickelten Proliferate überwiegend geringen Durchmessers (82% "Frühstadien") waren und nie ein multizentrisches Wachstum zeigten, auf das seltene Vorhandensein derartiger, zur neoplastischen Umwandlung prädestinierter Zellen in diesen Abschnitten zurückführen könnte.

Als Tumormutterzelle schien in Cortex und Hirnstamm den Oligodendrozyten die führende Rolle zuzukommen, da nahezu alle hier entwickelten Tumoren eine oligodendroglöse Ausdifferenzierung zeigten.

Zusammenfassend werden diese Beobachtungen durch die Untersuchungen von P.L.LANTOS (1972) und D.SCHIFFER et al.(1978) gestützt, die als besondere "Targetzellen" der zerebralen Kanzerogenese

- 1) die primitiven Zellen der Subependymschicht
- und 2) die Oligodendrozyten

herausstellten.

Das multifokale Wachstum voneinander unabhängiger Hirntumoren ist ein Charakteristikum der experimentellen neurotrophen Resorptivkanzerogenese; auf dieses Phänomen der Geschwulstmultiplizität und seine Abhängigkeit von unterschiedlichen Versuchsparametern sowie von den Auswertungsmethoden wurde bereits weiter oben näher eingegangen (s.S. 174 u. 180 ff.). Hiervon zu trennen ist das multilokuläre Tumorstadium als Folge einer Metastasierung im Liquorraum. Ein solcher Absiedelungsvorgang darf vermutet werden, wenn folgende Kriterien erfüllt sind: identisches histologisches Verhalten und erkennbare Beziehung der Einzelproliferate zu den inneren oder äußeren Liquorräumen.

In 3 Fällen konnte dieser Metastasierungsprozeß beobachtet werden, wobei zweimal der Sitz des Primärtumors im Rückenmark anzunehmen war und die Geschwulstzell-Absiedelung offenbar durch eine spinale Meningeosis gliomatosa begünstigt worden war. Im dritten Fall lag der Primärtumor im Boden des 4. Ventrikels und hatte somit ebenfalls Anschluß an den Liquorraum. Alle 3 Primärgeschwülste waren sehr zellreich, bei den beiden in die Meningen infiltrierte RM-Tumoren handelte es sich um maligne Gliome.

Berichte über eine Metastasierung experimenteller Gliome sind insgesamt sehr selten. Von D.SCHREIBER u.Mitarb. (1977) wurden Glioblastome mit

metastatischer Absiedelung bei Infiltration der Meningen beschrieben, A.J.NEWMAN u.L.E.MAWDESLEY-THOMAS (1974) fanden diesen geschwulstbiologischen Zusammenhang auch bei spontan entwickelten Glioblastomen von Laboratoriumsratten.

Fast 30% aller zerebralen Neoplasmen befanden sich in einem sehr frühen Proliferationsstadium, beurteilt nach Größe und Zelldichte. Der Durchmesser dieser präblastomatösen Areale betrug im Mittel ca. 300 µm und reichte bei weitmaschiger Verteilung der Geschwulstzellen bis zum Doppelten hiervon. Die von E.GROSSI-PAOLETTI u.Mitarb. (1972) als typisch beschriebene periganglionäre Satellitose und interfaszikuläre Hyperplasie gering vermehrter, isomorpher Oligodendrozyten konnte auch hier beobachtet werden. Allerdings waren zahlreiche Proliferate wegen des Vorherrschens undifferenzierter Zellen histologisch nicht sicher einzuordnen, sie mußten am ehesten als "astrozytom-artig" bzw. "oligodendrogliom-artig" bezeichnet werden. Auf diese Schwierigkeiten einer genauen geschwulsttypologischen Identifizierung der frühen neoplastischen Veränderungen wird auch von P.KLEIHUES u.Mitarb. (1968), P.L.LANTOS u.G.J.PILKINGTON (1979) und von D.SCHIFFER u.Mitarb.(1978) hingewiesen.

Erwartungsgemäß konnten die meisten dieser neoplastischen Anfangsstadien bei den jung getöteten Tieren gefunden werden. Überraschenderweise waren aber auch noch in den Gehirnen älterer Ratten derartige präblastomatöse Areale zu beobachten, was möglicherweise bedeutet, daß auch noch lange nach der Kanzerogenexposition eine Tumorentwicklung einsetzen kann. - Ob es sich hierbei allerdings tatsächlich um proliferierende Herde gehandelt hat, welche erst kurz vorher ihre neoplastischen Eigenschaften entfaltet hatten, oder ob es vielleicht ehemalige Geschwulstkeime mit jetzt ruhender Teilungsaktivität waren, muß offenbleiben. Die zweite Möglichkeit wird durch die Beobachtung unterstützt, daß im Autoradiographieversuch bei älteren Tieren relativ mehr "Frühstadien" keine Mitoseaktivität mehr erkennen ließen (s.u.). Andererseits wäre es jedoch auch denkbar, daß die hier verwendete, relativ niedrige Kanzerogendosierung im Rahmen der bekannten Dosisabhängigkeit der Tumor-Entwicklungslatenz (J.A.SWENBERG et al., 1972a) für eine späte bzw. langsame Geschwulstbildung verantwortlich zu machen ist.

Als besonderes Merkmal dieser kleinsten blastomatösen Herde war eine rötliche Färbung und Auflockerung der interzellulären Grundsubstanz zu beobachten. Zwar zeigten auch die größeren und zellreicheren Pro-

liferate dieses Phänomen, bei den Frühstadien stellte es aber oft das auffälligste Kennzeichen und in der mikroskopischen Übersichtsvergrößerung nicht selten den einzigen Hinweis dar, welcher überhaupt erst zu deren Identifizierung führte. - Diese kräftige, ins Rötliche gehende Tönung der sich bei der verwendeten Kresylviolett-färbung ansonsten zartrosa darstellenden Grundsubstanz (J. PEIFFER, 1959) darf vielleicht als "metachromatisches" Verhalten bezeichnet werden. Seine Ursache könnte möglicherweise im Vorhandensein bestimmter Stoffwechselprodukte oder enzymatischer (z.B. lytischer) Wirksubstanzen in der Umgebung von Tumorzellen liegen. Diese Interpretation stützt sich nicht auf gleichartige Darstellungen anderer Untersucher. Als gewisser Hinweis aus der Literatur ließe sich allenfalls die von STAVROU beschriebene erhöhte Leucin-aminopeptidase-Aktivität in der Infiltrationszone experimenteller NS-Tumoren verwerten. Diesem Enzym kommt möglicherweise die Rolle eines die Grundsubstanz auflösenden Faktors zu ("Spreading factor"), dessen Reaktionsprodukte sowohl intra- als auch interzellulär lokalisiert sind (D. STAVROU, 1971). Die in der vorliegenden Arbeit ebenfalls beobachtete Auflockerung der interzellulären Grundsubstanz im Bereich neoplastischer Herde könnte eventuell auf die Wirkung dieses "Spreading factor" zurückgeführt werden.

Daß diese "frühen neoplastischen Veränderungen" tatsächlich als kleinste Geschwulstherde zu deuten waren und es sich nicht um andersartige, z.B. entzündlich-reaktive Zellproliferate (J. ALTMAN, 1963) handelte, wird u.a. durch zwei Indizien gestützt: zum einen konnten sie in allen Lokalisationen nachgewiesen werden, in denen auch die größeren Tumoren zu finden waren, zum anderen zeigte keines der 3 nicht kanzerogen-exponierten Hirn-Kontrollpräparate vergleichbare typische Zellgruppierungen (Satellitose, interfazikuläre Hyperplasie) oder Areale mit dem beschriebenen färberischen Verhalten.

Vorbehaltlich der geringen statistischen Aussagekraft einer Fallzahl von nur 28 Tieren konnten gewisse Geschlechtsunterschiede der Tumorzinzidenz beobachtet werden: bei den männlichen Tieren betrug die Häufigkeit neurogener Tumoren 3,8 pro Ratte (3,1 Hirn- u. 0,7 extrazerebrale Tumoren pro Tier), bei den Weibchen lag sie mit 2,7 pro Ratte (2,3 Hirn- u. 0,4 extrazerebrale Tumoren pro Tier) deutlich niedriger. H.M. CRAVIOTO u. Mitarb. (1974) und J.A. SWENBERG u. Mitarb. (1972a) beschrieben ebenfalls eine höhere Geschwulstinzidenz bei männlichen Rat-

ten bzw. eine signifikant geringere Überlebensdauer der Böcke. Andere Autoren können diese Zusammenhänge nicht bestätigen (H.D.MENNEL u. K.J.ZÜLCH, 1972; E.L.JONES et al., 1973).

III Diskussion der autoradiographischen Ergebnisse:

Bei 8 Tieren wurde neben der mikroskopisch-histologischen Untersuchung der experimentellen Hirntumoren auch versucht, mit Hilfe der Autoradiographie das Proliferationsverhalten dieser Neoplasmen genauer zu beschreiben. Dieses sich auf den Einbau radioaktiv-markierten Thymidins in teilungsaktive Zellen stützende, versuchstechnisch einfache Verfahren erwies sich prinzipiell als gut geeignet, teilungsbereite Gliazellen innerhalb der neoplastischen Areale sichtbar zu machen und somit Aufschluß über die proliferative Aktivität des jeweiligen Tumors bzw. präblastomatösen Herdes zu geben. Der die Mitoserate bezeichnende Markierungsindex ließ sich aus dem Verhältnis von markierten Zellen zur Gesamtzahl aller Tumorzellen berechnen (W.MAURER, 1959). Allerdings stieß die genaue Bestimmung dieses Markierungsindex' auf größere Schwierigkeiten, deren Ursache v.a. im angewandten Auszählverfahren begründet lag und welche die ermittelten Zahlenwerte in ihrer Aussagekraft einschränkten.

Die Auszählung der interessierenden Zellen erfolgte visuell bei starker mikroskopischer Vergrößerung und ohne weitere apparative Hilfsmittel, woraus von vornherein gewisse Meßungenauigkeiten resultierten. - Wegen des erheblichen zeitlichen Aufwandes war es nicht möglich, von allen Proliferaten sämtliche Einzelschnitte auszuzählen und daraus einen Markierungs-Mittelwert zu bilden (von einigen existierten mehr als 12 Schnittpräparate), sondern es wurden jeweils nur die Schnitte mit der größten Anzahl markierter Zellen zur Berechnung des Markierungsindex' herangezogen. Es handelt sich deshalb um **M a x i m a l w e r t e**, die im Grunde **n i c h t r e p r ä s e n t a t i v** für den Tumor als Ganzes sind, sondern lediglich das Teilungsverhalten im betreffenden Ausschnitt wiedergeben. - Bei den blastomatösen Frühstadien waren nicht alle innerhalb des tumorösen Areals befindlichen Zellen als Geschwulstzellen zu betrachten, sondern es mußte davon ausgegangen werden, daß zwischen den neoplastisch-transformierten Zellen auch noch nicht-transformierte lagen. Um für die Berechnung des Markierungsindex' möglichst über die tatsächliche Tumorzellzahl zu verfügen, war

deshalb die Subtraktion der ortsständigen Zellen erforderlich, deren Zahl durch Auszählung eines gleich großen und benachbarten (bzw. anatomisch-strukturell identischen), nicht-tumorösen Areals ermittelt wurde. Dieses aufwendige und wenig genaue Verfahren hatte zwangsläufig eine größere Fehlerbreite zur Folge.

Bei Berücksichtigung ihrer eingeschränkten Aussagekraft lassen sich die Ergebnisse der autoradiographischen Untersuchungen folgendermaßen bewerten: Bei Zusammenfassung aller ausgewerteten Proliferate betrug der mittlere Mitose-Index 2,1 (i.e., 2,1% der Zellen befanden sich in teilungsbereitem Zustand), mit einer Streubreite von 0,3 bis 5,7. Die Mitoserate der Frühstadien lag mit 2,3 leicht über diesem Mittelwert, diejenige der Mikrotumoren mit 1,1 darunter. Erstaunlicherweise war allgemein eine Abnahme des Markierungsindex' von den kleinsten prä-tumorösen Herden zu den größeren Proliferaten und Mikrotumoren hin nachzuweisen. Dies steht zunächst im Widerspruch zu der Überlegung, daß größere und zellreichere Neoplasmen aufgrund ihrer zu vermutenden höheren Teilungsaktivität auch eine stärkere Markierung zeigen müßten. Es ist allerdings anzunehmen, daß die scheinbar höhere Mitoserate der Frühstadien eine Folge der ungleichmäßigen Verteilung der markierten Zellen innerhalb des blastomatösen Areals war. Diese lagen oft in kleinen Gruppen beieinander, wodurch sie bei der geringen Gesamtzellzahl prä-neoplastischer Herde anteilmäßig relativ stark ins Gewicht fielen - zumal ja auch grundsätzlich diejenigen Schnitte zur Auswertung herangezogen wurden, welche die meisten markierten Zellen aufwiesen. Zu diskutieren wäre allerdings auch die Möglichkeit, daß die niedrigere Mitoserate der Mikrotumoren auf das Überwiegen der evtl. weniger teilungsaktiven Mischgliome (s.u.) in dieser Tumorgruppe zurückzuführen war. Die Aufgliederung der Mitoseindizes nach histologischen Gesichtspunkten ergab bei den undifferenzierten oligodendrogliösen bzw. astrozytären Proliferaten keine wesentlichen Unterschiede. Die Teilungsaktivität der Mischgliome war etwa um die Hälfte niedriger, was einerseits eine geschwulstbiologische Eigenschaft dieses Gliomtyps sein könnte, andererseits aber auch durch die überwiegende Zugehörigkeit der Mischgliome zu den Mikrotumoren bedingt sein könnte, welche an sich schon eine geringere Mitoserate zeigten. Welcher dieser Faktoren allerdings entscheidend war, muß offenbleiben. Der nur 1,24 betragende mittlere Mitoseindex der isomorphen Oligodendrogliome hatte seine Ursache darin, daß sich in dieser Gruppe die meisten derjenigen Proliferate befanden, welche überhaupt keine Zellmarkierung erkennen ließen, wobei es sich ausschließlich um Frühstadien

handelte. Vielleicht wäre dies dahingehend zu deuten, daß d i f f e - r e n z i e r t e Gliome in ihrer Frühphase eine geringere Proliferationsneigung besitzen als undifferenzierte.

Vergleicht man noch die mittleren Markierungsindizes in Abhängigkeit vom Alter, so findet man bei den jünger-getöteten Tieren einen etwa doppelt so hohen Wert wie bei den älteren. Möglicherweise ist dies auf den höheren Anteil von Mikrotumoren und Mischgliomen in der älteren Tiergruppe zurückzuführen, deren durchschnittlich niedrigere Mitoseraten bereits diskutiert wurden.

Von Interesse war noch die Feststellung, daß rd. 1/4 aller Proliferate der zum späteren Zeitpunkt getöteten Ratten keine Zellmarkierung aufwies; das waren anteilmäßig wesentlich mehr als bei den jüngeren Tieren. Dabei handelte es sich überwiegend um "präblastomatische" Oligodendroglia-Foci. Vielleicht läßt sich diese Beobachtung dahingehend interpretieren, daß tumoröse Herde ihre Proliferationsfähigkeit reduzieren oder vollkommen einstellen können. Eventuell muß dies auch mit dem Nachweis kleinster neoplastischer "Frühstadien" bei den ältesten Ratten des Versuchs, also lange Zeit nach der Kanzerogen-Exposition, in Zusammenhang gesehen werden.

Autoradiographische Untersuchungen des Proliferationsverhaltens experimenteller Rattenglione werden in der Literatur nur sehr selten erwähnt. Ein mit der vorliegenden Arbeit vergleichbares Vorgehen findet sich bei P.CITOLER u.C.THOMAS (1968), die für "Gliomatosen" einen ³H-Thymidin-Index von 1,5% angeben, für isomorphe Gliome von 3 - 8%. K.TAOMOTO (1977) beschreibt Frühstadien und Mikrotumoren mit einem Markierungsindex zwischen 0,1 und 5%. - Somit werden die eigenen Ergebnisse größenordnungsmäßig durch die Befunde anderer Untersucher bestätigt.

Einige autoradiographische Zusatzuntersuchungen befaßten sich mit dem Auftreten teilungsaktiver Zellen in gewissen Hirnregionen, außerhalb von neoplastischen Proliferaten. Zunächst wurde die Mitoserate der s u b e p e n d y m a l e n M a t r i x z o n e (SMZ) bestimmt, jener Zellschicht also, welcher nicht nur in der Perinatalperiode, sondern auch noch bei erwachsenen Ratten eine proliferative Funktion als Ort der Glia-Neogenese zukommt (J.ALTMAN u.G.D.DAS, 1965; P.D.LEWIS, 1968). Es ergaben sich Werte zwischen 6,5% u. 8,5% in der jüngeren Tiergruppe und zwischen 3% u. 5% bei den älteren Ratten. Dieser möglicherweise altersabhängige Unterschied ist jedoch nicht sicher verwertbar, da infolge einer verschiedenen Schnittführung der mikrosko-

pischen Präparate (Horizontal- bzw. Frontalschichten) nicht identische Anteile der Subependymschicht untersucht wurden. - In der subependymalen Zone eines nicht ÄNH-exponierten Kontrolltiers konnte ein den anderen Werten entsprechender Markierungsindex von 4,8% gefunden werden, woraus zu schließen ist, daß die proliferative Tätigkeit in der SMZ der anderen Ratten ein von der Kanzerogeneinwirkung unabhängiges, der funktionellen Bedeutung dieser Zellschicht entsprechendes Phänomen darstellt. - Der von P.D.LEWIS (1968) angegebene Markierungsindex von 16,6% für die SMZ adulter Ratten war in dieser Höhe nicht zu bestätigen.

Im Winkel zwischen Nucl.caudatus u.Corp.callosum konnten vermehrt markierte Zellen beobachtet werden, die offenbar aus der Subependymschicht in den Balken einstrahlten. Auch in weiter peripher gelegenen Balkenabschnitten und im subkortikalen Marklager der Hippocampusformation waren noch vereinzelt teilungsaktive Zellen nachweisbar. Dieser Befund konnte in gleicher Weise auch bei dem nicht ÄNH-exponierten Kontrolltier erhoben werden.

Dies entspricht den autoradiographischen Untersuchungsergebnissen von J.ALTMAN (1966a), der bei Ratten ein Band markierter Zellen beobachten konnte, welches sich zwischen Balken und Stammganglien in Richtung auf den Cortex hin erstreckte und bei welchem es sich seiner Ansicht nach um im Rahmen der Glia-Neubildung aus der SMZ abgewanderte Zellen handelte. Diese Befunde müssen mit den Untersuchungen von LANTOS und PILKINGTON (P.L.LANTOS, 1977; G.J.PILKINGTON u. P.L.LANTOS, 1979) in Zusammenhang gesehen werden, welche neoplastisch-umgewandelte und dann nach peripher ausgewanderte Zellen der Subependymschicht als Stammzellen experimenteller Gliome betrachten. Das Phänomen der Vorzugslokalisationen wäre somit als eine direkte Folge dieser in Verbindung mit der Glia-Neogenese stattfindenden Zellwanderung zu verstehen.

IV Diskussion der Bedeutung für die menschliche Neuroonkologie:

Abschließend seien aus den im Zusammenhang mit tierexperimenteller Tumorerzeugung stets auftauchenden Fragen nach ihrer Übertragbarkeit und Bedeutung für die Geschwulstentstehung beim Menschen einige wenige herausgegriffen, welche nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung in besonderer Weise bedenkenswert erscheinen.

Hier muß zunächst die Frage erörtert werden, ob auch für die Entstehung neurogener Tumoren des Menschen die *t r a n s p l a z e n t a r e* Kanzerogeneinwirkung eine ursächliche Rolle spielen könnte. Während diese Expositionsform bisher nur für eine bestimmte Art von Vaginaltumoren nach Stilboestrol-Behandlung der Mutter ätiologisch als gesichert gelten darf (A.L.HERBST et al., 1971), ist bei einer Reihe von Geschwülsten des frühen Kindesalters die intrauterine Erzeugung zumindest teilweise als wahrscheinlich zu betrachten. Hierzu zählen diejenigen Neoplasmen, welche bereits innerhalb der ersten Lebenswochen zum Tode führen oder solche, deren Häufigkeitsgipfel im Kleinkindesalter liegt (R.W.MILLER, 1973a). Dieser Kategorie besonders zuzurechnen sind z.B. Nephroblastome (auch im Tierexperiment bei diaplazentarer Kanzerogeneinwirkung häufiger anzutreffen !), Neuroblastome und einige Hirn- bzw. Kleinhirntumoren. Unter den Geschwülsten des Kleinkindesalters (bis 5.Lebensjahr) stellen Neuroblastome und Hirntumoren zusammengefaßt (10,9% bzw. 10,8%) nach den Leukosen die zweitgrößte Tumorgruppe dar (J.F.FRAUMENI jr. u. R.W.MILLER, 1969). Möglicherweise hat die tierexperimentell nachgewiesene erhöhte Sensibilität des fetalen Nervensystems gegenüber blastomogenen Substanzen auch für die Pathogenese kindlicher Tumoren eine entscheidende Bedeutung. Nach W.WECHSLER (1971) finden sich in der Neuropathologie Indizien dafür, "daß auch das menschliche Nervensystem während der Perinatalperiode eine besondere Empfindlichkeit gegenüber onkogenen Noxen aufweist". Der Gedanke liegt nahe, daß auch beim Menschen eine pränatale Geschwulstinduktion erfolgen kann - möglicherweise nach erhöhter Aufnahme kanzerogener Substanzen durch die Mutter (D.SCHMÄHL, 1973). H.GÜTHERT u. R.WARZOK (1974) gehen von der Annahme aus, "daß die überwiegende Mehrzahl der menschlichen Hirntumoren durch resorptiv wirksame chemische Karzinogene entsteht" - ohne dies jedoch speziell auf die diaplazentare Erzeugung zu beschränken.

Um wieder auf die eigenen Untersuchungen einzugehen, soll hier auch noch die Beobachtung einer kurzen Diskussion unterzogen werden, die im Zusammenhang mit dem Auftreten von kleinsten blastomatösen Proliferaten bei *a u s g e w a c h s e n e n* Ratten gemacht wurde. Dieses, möglicherweise auf die niedrige ANH-Dosierung (s.o.) zurückzuführende Phänomen eines neoplastischen Wachstums auch noch lange Zeit nach der Kanzerogenexposition wäre in Fortführung der o.g. Überlegungen eventuell dahingehend zu interpretieren, daß auch die neuro-

genen Geschwülste des E r w a c h s e n e n und des alten Menschen bereits i n u t e r o angelegt sein könnten. Von einigen Autoren wird diese Möglichkeit diskutiert (J.M.RICE, 1973; D.SCHMÄHL, 1973; P.L.LANTOS u.D.J.COX, 1976). Die lange Entwicklungslatenz wäre Folge der beim Menschen im Vergleich zum Tierversuch als niedrig anzunehmenden Kanzerogendosis.

Schließlich seien noch kurz zwei Aspekte menschlicher Hirngeschwulstbiologie angesprochen, die in den eigenen experimentellen Untersuchungen als wesentliche Befunde herausgestellt werden konnten und auch bereits näher diskutiert wurden.

Da ist zum einen das Phänomen der V o r z u g s l o k a l i s a t i o n zu nennen, welches als typisches Kennzeichen menschlicher Hirngeschwülste gilt und auch in der vorliegenden Arbeit für die gliogenen Tumoren eindeutig nachzuweisen war. Ob die im Tierexperiment beschriebenen undifferenzierten, aus der subependymalen Matrixzone in bestimmte Hirnregionen (entspr. den Vorzugslokalisationen !) ausgewanderten Stammzellen für die topische Prädisposition menschlicher Tumoren ebenfalls eine Rolle spielen, kann hier nicht beantwortet werden. Immerhin konnte die Subependymschicht als Ursprungsort neuroektodermaler Zellen auch beim Menschen nachgewiesen werden und J.H.GLOBUS u. H.KUHLLENBECK (1944) betrachten z.B. die Tumoren der "striato-thalamischen Rinne" als aus embryonalen Zellen dieser Matrixplatte hervorgegangen. P.L.LANTOS u.Mitarb. weisen auf die besondere Empfindlichkeit der menschlichen Subependymschicht gegenüber transplazentar wirkenden Kanzerogenen im Fetalstadium hin. Damit in Beziehung bringen sie ihre eigenen experimentellen Befunde einer bevorzugten Kanzerisierung der Subependymzellen, deren mögliches Auswandern in andere Hirnregionen und ihre Bedeutung für die Gliomentwicklung überhaupt (P.L.LANTOS u. D.J.COX, 1976; G.J.PILKINGTON u.P.L.LANTOS, 1979).

Als zweites soll noch auf das für die tierexperimentelle Tumorerzeugung charakteristische m u l t i f o k a l e Gliomwachstum und dessen Bedeutung in der menschlichen Neuroonkologie kurz eingegangen werden. In einer von W.SCHIEFER u.Mitarb. stammenden Literaturübersicht schwanken die Angaben zur Häufigkeit multipler Gliome zwischen 0,5 und 10%, jedoch mit dem Hinweis, daß von den einzelnen Untersuchern nicht immer den für diese Diagnosestellung zu fordernden strengen Kriterien gefolgt wurde. Anhand einer den Zeitraum von 19 Jahren umfassenden Zusammenstellung beschreiben diese Autoren zusätzlich 26 eigene Fälle

eines multizentrischen Glioblastom-Wachstums. Es handelte sich dabei um jeweils 2 oder 3 Tumorknoten, die entweder auf 1 Hemisphäre beschränkt blieben oder in beiden Hirnhälften bzw. im Balken u. Hirnstamm lokalisiert waren (W.SCHIEFER et al., 1978).

Während also beim Menschen die Multiplizität primärer Hirntumoren (ohne Metastasierung innerhalb des Organsystems) eher selten ist, stellt sie in der tierexperimentellen Resorptivkanzerogenese den Regelfall dar. Es wäre vorstellbar, daß dieser Unterschied einfach eine Folge stark verschiedener Dosisverhältnisse der zur Wirkung gelangenden Kanzerogene ist - sei es die im Experiment verabreichte, wesentlich höhere Substanzmenge, sei es durch eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber den entscheidenden Agentien bei Mensch und Tier. Außerdem wäre die im eigenen Untersuchungsmaterial häufig zu beobachtende *K o n f l u e n z* multizentrischer Geschwulstkeime zu einem großen Tumor in ähnlicher Weise auch für die menschlichen Gliome zu diskutieren; in dem Sinne, daß ursprünglich mehrere neoplastische Einzelherde bestanden und später zu 1 Neoplasma verschmolzen sind. Vielleicht könnte man in dem primären Vorhandensein mehrerer eng benachbarter Tumorknoten, von denen einige infolge ihrer geringen Größe nicht diagnostiziert bzw. intraoperativ erkannt und exstirpiert werden können, auch eine der Ursachen für die hohe lokale "Rezidiv"-Neigung operierter Glioblastome sehen.

F/ Zusammenfassung:

3 trächtige BD II-Ratten erhielten am 15. bzw. 17.Tag der Schwangerschaft eine 1-malige i.v.-Gabe von Äthylnitrosoharnstoff (25 mg/kg Körpergewicht). Die 28 Nachkommen wurden in unterschiedlichem Alter zwischen 4. und 25.Lebensmonat getötet, ihre Gehirne zu histologischen Stufenschnitten aufgearbeitet (Schnittabstand 60 bzw. 120 μ m) und einer lichtmikroskopischen Tumorsuche unterzogen. Bei 8 Jungtieren wurden zusätzlich autoradiographische Untersuchungen zu Fragen des Proliferationsverhaltens und Ursprungs der gliogenen Tumoren durchgeführt.

Die diaplazentare ANH-Exposition führte bei 26 Ratten zu einer neurogenen Geschwulstentwicklung (93%). In der überwiegenden Mehrzahl handelte es sich um intrazerebrale Neoplasien (89%), welche wiederum in 92% der Fälle multipel auftraten. Insgesamt waren 110 Hirntumoren (107 Gliome, 1 Ependymom/-blastom, 2 Meningealsarkome), 5 Trigeminustumoren, 5 Rückenmarksgliome und 2 Neurosarkome peripherer Nervenplexus nachzuweisen. Extraneurale Neubildungen fanden sich in 18%, bei denen jedoch - zumindest für die Mammatumoren - auch eine spontane Entstehung zu diskutieren war. Bemerkenswert war die zusätzliche Beobachtung eines spontanen Neurofibrosarkoms bei einem nicht-exponierten Tier.

Die weiteren Untersuchungen richteten sich auf die intrazerebralen Neoplasmen, wobei die lichtmikroskopische Aufarbeitung der Gehirne in Stufenschnitten zu einer erhöhten Nachweisgenauigkeit bezüglich Inzidenz und Lokalisation sowie Erfassung auch kleinster blastomatischer Herde führte. Die neoplastischen Proliferationen konnten aufgrund ihrer Größe und ihres Wachstumsverhaltens in 4 Entwicklungsstadien eingeteilt werden, von den kleinsten, in statu nascendi befindlichen Geschwulstanfängen bis hin zu raumfordernden u. pleomorphen Tumoren. - In 3 Fällen war eine metastatische Geschwulstausbreitung auf dem Liquorweg zu beobachten. Bei den 108 zerebralen Tumoren handelte es sich mit Ausnahme eines Ependymom/-blastoms ausschließlich um Gliome, von denen rd. 2/3 nach geschwulstbiologischen Kriterien als Frühstadien zu bezeichnen waren. Fast die Hälfte aller Prolifereate war aus undifferenzierten Gliazellen aufgebaut, die eine genaue typologische Zuordnung nicht zuließen. Dies betraf insbesondere die frühen Entwicklungsstadien. Hippocampus-Formation und Seitenventrikel-Vorderhornregion spielten als Vorzugslokalisationen neoplastischen Wachstums eine führende Rolle. Zur Erklärung dieser Prädispo-

tionsorte wurde die Bedeutung der subependymalen Matrixzone und der aus dieser hervorgehenden, undifferenzierten Stammzellen der Gliogenese diskutiert; einige autoradiographische Zusatzbefunde unterstützten diesbezügliche Zusammenhänge. - Als lichtmikroskopische Besonderheit ließen die tumorösen Areale eine Auflockerung und ("metachromatische") Verfärbung ihrer interzellulären Grundsubstanz erkennen, deren mögliche Ursache in der Wirkung tumorzell-eigener Enzyme gesehen wurde.

Die Untersuchung der Gehirne nach verschieden langen Lebensspannen bot die Möglichkeit einer gewissen zeitlichen Längsschnitt-Beobachtung der Tumorentwicklung. Zwei besondere Erkenntnisse waren hieraus zu gewinnen: - 1. Das geschwulstbiologische Verhalten experimenteller Rattengliome scheint eine stadienhafte Entwicklung zu durchlaufen, von isomorphen u. zellarmen Frühstadien über zellreichere Mikrotumoren mit gesteigerter Wachstumstendenz aber noch ohne Entartungszeichen bis hin zu großen und raumfordernden, pleomorphen Tumoren mit den typischen histologischen Kennzeichen "maligner" Gliome. Hierbei kommt möglicherweise den Mischgliomen die Rolle einer Zwischenstufe am Übergang zu den polymorphen Geschwulstformen zu. - 2. Das Wachstum experimenteller Gliome beruht nicht nur auf der Größenzunahme des Einzelherdes, sondern ist vielfach auch Ergebnis einer Konfluenz mehrerer eng benachbarter Tumorareale zu einem größeren, multizentrisch angelegten Geschwulstfeld. Dieses Phänomen ist fast ausschließlich auf die o.g. Vorzugslokalisationen beschränkt, was mit einer primär höheren Präsenz neoplastisch-transformierter Zellen in jenen Regionen zu erklären sein dürfte.

Von besonderem Interesse war das Vorhandensein kleinster blastomätscher Proliferate auch noch bei den ältesten Tieren - nach Kanzerogenexposition im Fetalstadium !

Die Bedeutung dieser Beobachtung für das Wachstumsverhalten experimenteller Gliome, insbesondere aber ihre mögliche Übertragbarkeit auf die Hirntumorentstehung beim Menschen - im Sinne einer bereits intrauterin stattfindenden Induktion neurogener Tumoren mit Manifestation im Erwachsenenalter -, wurden diskutiert.

Durch die autoradiographische Markierung teilungsaktiver Zellen mit ^3H -Thymidin wurde bei einigen Versuchstieren der mittlere Mitose-Index der Tumorproliferate als ein Maß ihrer Wachstumstendenz bestimmt. Dieses auswertungstechnisch mit Schwierigkeiten verbundene und deshalb nur bedingt aussagekräftige Verfahren ergab stark schwankende Werte

zwischen 0,3 und 5,7%, die jedoch mit den Ergebnissen anderer Autoren weitgehend übereinstimmten. Erstaunlicherweise lag der mittlere Markierungsindex früher neoplastischer Entwicklungsstadien über demjenigen größerer Proliferate. Es darf vermutet werden, daß dieses Phänomen nicht auf eine tatsächlich höhere Teilungsaktivität der Tumorfürstadien zurückzuführen ist, sondern seine Ursache vorwiegend in methodischen Bedingungen begründet liegt. - Autoradiographische Zusatzuntersuchungen bestätigten die besondere proliferative Funktion der subependymalen Zellplatte und konnten teilungsaktive Zellen auch an anderen, den Tumor-Vorzugslokalisationen entsprechenden Orten nachweisen. Es konnte außerdem gezeigt werden, daß der Markierungsindex der Subependymschicht sowie das Auftreten teilungsfähiger Zellen in gewissen benachbarten Regionen von der Kanzerogenwirkung unabhängig waren, da sie gleichermaßen auch bei einem nicht-exponierten Kontrolltier angetroffen wurden. Die mögliche Bedeutung dieser Befunde für das Phänomen der Vorzugslokalisationen wurde diskutiert, wobei besonders auf die von einigen Autoren vermutete zentrale Stellung der subependymalen Matrixzone als Ursprungsort kanzerogen transformierter, undifferenzierter Stammzellen gliomatöser Tumoren eingegangen wurde.

Verschiedene experimentelle Beobachtungen gaben Anlaß, auf mögliche kausal- u. formalpathogenetische Beziehungen zur m e n s c h l i c h e n Hirntumorentwicklung hinzuweisen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- ALEXANDROV, V.A.: Uterine, vaginal and mammary tumors induced by Nitrosoureas in pregnant rats. Nature 222: 1064-1065 (1969)
- ALEXANDROV, V.A.: Transplacental blastomogenic action of N-nitroso-methyl-urea in rat offspring. Vop.Onkol. 15: 55 (1969a)
- ALEXANDROV, V.A.: Some results and prospects of transplacental carcinogenesis studies. Neoplasma 23: 285-299 (1976)
- ALEXANDROV, V.A., W.JÄNISCH: Die teratogene Wirkung von Äthylharnstoff und Nitrit bei Ratten. Experientia 27: 538-539 (1971)
- ALTMAN, J.: Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. Anat.Rec. 145: 573-591 (1963)
- ALTMAN, J.: Proliferation and migration of undifferentiated precursor cells in the rat during postnatal gliogenesis. Exp.Neurology 16: 263-278 (1966a)
- ALTMAN, J.: Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis-I-. J.Comp.Neurol. 128: 431-474 (1966b)
- ALTMAN, J., G.D.DAS: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. J.Comp.Neurol. 124: 319-336 (1965)
- ALTMAN, J., G.D.DAS: Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. -II-. J.Comp.Neurol. 126: 337-390 (1966)
- ARNOLD, H., H.M.ZIMMERMAN: Experimental brain tumours. - III. Tumours produced with dibenzanthracene. Cancer Res. 8: 682-685 (1943)
- BARKER, M., T.HOSHINO, O.GURCAY, C.B.WILSON, S.N.NIELSEN, R.DOWNIE, J.ELIASON: Development of an animal brain tumor model and its response to therapy with 1,3 -bis- (2-chloroethyl) -1- nitrosourea. Cancer Res. 33: 976-986 (1973)

- BECKER, F.F.: Cell function: its importance in chemical carcinogenesis.
Fed.Proc. 30: 1736-1741 (1971)
- BENDA, P., S.KUNIYUKI, J.MESSER, W.H.SWEET: Morphological and immuno-
chemical studies of rat glial tumors and clonal strains propa-
gated in culture. J.Neurosurg. 34: 310-323 (1971)
- BERG, N.O., M.LINDGREN: Time-dose relationship and morphology of
delayed radiation lesions of the brain in rabbits.
Acta Radiol., Suppl. 167: Stockholm 1958
- BORNEFF, J.: Hygiene - Ein Leitfaden für Studenten und Ärzte.
G.Thieme-Verl. Stuttg. 1971
- BOSCH, D.A.: Facetten van chemische neuro-oncogenese.
Thesis Groningen 1973
- BOSCH, D.A., E.J.EBELS: Temporary cell cycle arrest in neural and extra-
neural developing rat tissues after exposure to Methyl- and Ethyl-
nitrosourea. Z.Krebsforsch. 86: 23-31 (1976)
- BRUCHER, J.M., A.E.ERMEL: Central neuroblastoma induced by transpla-
cental administration of Methylnitrosourea in Wistar-R-rats.
J.Neurol. 208: 1-16 (1974)
- CASTO, B.C., J.A.DIPAULO: Virus, chemicals and cancer. Progr.med.Virol.16:
1 - 47 (Karger, Basel 1973)
- CITOLER, P., C.THOMAS: ³H-Thymidin-Autoradiographie an experimentell
erzeugten Tumoren des Nervensystems der Ratte.
Verh.Dtsch.Ges.Path.52: 380-384 (196)
- CRAVIOTO, H.M., J.F.WEISS, H.H.GOEBEL, E.C.WEISS, J.F.RANSCHOFF:
Preferential induction of central or peripheral nervous system
tumors in rats by nitrosourea derivatives.
J.Neuropathol.Exp.Neurol.33 (5): 595-615
(1974)
- DALLENBACH, F.D.: Zur Frage der Relevanz tierexperimenteller Ergebnisse
für die menschliche Karzinogenese.
Fortschr.Med. 91: 435-438 (1973)

- DAVIDOFF, L.M.: Some experiences with experimental brain gliomas in mice.
Israel J. Med. Sci. 1: 633-642 (1965)
- DENLINGER, R.H., A. KOESTNER, W. WECHSLER: Induction of neurogenic tumors in C 3 He B/FeJ-mice by nitrosourea-derivatives: observations by light, microscopy, tissue culture, and electron microscopy.
Int. J. Cancer 13: 559-571 (1974)
- DIMANT, I.N., G.M. LOKTIONOV, M.M. SATAEV: Die Induktion von Geschwülsten der Rückenmarkshäute bei Kaninchen. Vop. Onkol. 11: 46-53 (1965)
- DOELL, R.G., W.H. CARNES: Urethane induction of thymic lymphoma in C 57 mice.
Nature (London) 194: 588 (1962)
- DRUCKREY, H.: Chemical structure and action in transplacental carcinogenesis and teratogenesis.
aus: Transplacental Carcinogenesis (Eds.: TOMATIS, L., U. MOHR). IARC-Monography No. 4 pp. 45-58, Lyon 1973
- DRUCKREY, H.: Specific carcinogenic and teratogenic effects of 'indirect' alkylating methyl and ethyl compounds, and their dependency on stages of ontogenic developments. Xenobiotica 3 (5): 271-303 (1973a)
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, D. SCHMÄHL, M. MÜLLER: Erzeugung von Magenkrebs durch Nitrosamide an Ratten. Naturwissenschaften 48: 165 (1961)
- DRUCKREY, H., P. DANNEBERG, W. DISCHLER, D. STEINHOFF: Reinzucht von Rattenstämmen. Arzneimittelforsch. 12: 911-919 (1962)
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, J. AFKHAM, G. BLUM: Erzeugung von Lungenkrebs durch Methylnitrosourethan bei intravenöser Gabe an Ratten.
Naturwissenschaften 49 (19): 451 (1962a)
- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN: Selektive Erzeugung von Hirntumoren bei Ratten durch Methylnitrosoharnstoff.
Naturwissenschaften 51: 144 (1964)
- DRUCKREY, H., D. STEINHOFF, R. PREUSSMANN, S. IVANKOVIC: Erzeugung von Krebs durch eine einmalige Dosis von Methylnitroso-Harnstoff und verschiedenen Dialkylnitrosaminen an Ratten.
Z. Krebsforsch. 66: 1-10 (1964a)

- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN: Selektive Erzeugung maligner Tumoren im Gehirn und Rückenmark von Ratten durch N-Methyl-N-nitrosoharnstoff. Z. Krebsforsch. 66: 389-408 (1965)
- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN: Teratogenic and carcinogenic effects in the offspring after single injection of Ethylnitroso-urea to pregnant rats. Nature 210: 1378-1379 (1966)
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, F. MATZKIES, S. IVANKOVIC: Carcinogene Wirkung von 1,2 - Diäthylhydrazin an Ratten. Naturwissenschaften 53: 557-558 (1966a)
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, S. IVANKOVIC, D. SCHNÄHL: Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten. Z. Krebsforsch. 69: 103-201 (1967)
- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN: Neurotrope carcinogene Wirkung von Phenylldimethyltriazin an Ratten. Naturwissenschaften 54: 171 (1967a)
- DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN, Ch. LANDSCHÜTZ, J. STEKAR, U. BRUNNER, B. SCHAGEN: Transplacental induction of neurogenic malignomas by 1,2-diethyl-hydrazine, azo-, and azoxy-ethane in rats. Experientia 24: 561 (1968)
- DRUCKREY, H., B. SCHAGEN, S. IVANKOVIC: Erzeugung neurogener Malignome durch einmalige Gabe von Äthyl-nitrosoharnstoff (ÄNH) an neugeborene und junge BD IX-Ratten. Z. Krebsforsch. 74: 141-161 (1970)
- DRUCKREY, H., Ch. LANDSCHÜTZ, S. IVANKOVIC: Transplazentare Erzeugung maligner Tumoren des Nervensystems. II. Äthyl-nitrosoharnstoff an 10 genetisch definierten Rattenstämmen. Z. Krebsforsch. 73: 371-386 (1970a)
- DUSTIN, P. jr.: Cell differentiation and carcinogenesis: a critical review. Cell Tissue Kinet. 5: 519-533 (1972)
- EDELMAN, F. L., F. ALEU, L. C. SCHEINBERG, J. C. EVANS, L. M. DAVIDOFF: Effect of irradiation on the growth of intracerebral gliomas in mice. J. Neuropath. Exp. Neurol. 23: 1-17 (1967)

- ENGELMANN, U., H. SCHMIDT, H. WALDBAUR: Subkutane und intrazerebrale Transplantation eines neurogenen Sarkoms der Ratte.
Krankenhausarzt 49: 820 (1976)
- FARBER, E.: Experimental chemical carcinogenesis.
Proc. Natl. Cancer Conf. 7: 395-399 (1973)
- FISCHER, K.: Subependymale Zellproliferationen und Tumordisposition brachycephaler Hunderassen. Acta Neuropath. 8: 242-254 (1967)
- FITZGERALD, J. E., J. L. SCHARDEIN, S. M. KURTZ: Spontaneous tumors of the nervous system in Albino rats. J. Natl. Cancer Inst. 52: 265-273 (1974)
- FRANK, H. K.: Mykotoxine und ihre Produzenten. Med. Klin. 62: 1933 (1967)
- FRAUMENI, J. F., R. W. MILLER: Cancer deaths in the newborn.
Amer. J. Dis. Child. 117: 186-189 (1969)
- GERBER, P., R. L. KIRSCHSTEIN: SV 40 -induced ependymomas in newborn hamsters.
Virology 18: 582-588 (1962)
- GILBERT, Ch., J. GILLMAN: Spontaneous neoplasms in the albino rat.
S. Afr. J. Med. Sci. 23: 257-272 (1958)
- GLOBUS, J. H., H. KUHNENBECK: The subependymal cell plate (matrix) and its relationship to brain tumors of the ependymal type.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 3: 1-35 (1964)
- GOTH, R., M. F. RAJEWSKY: Ethylation of nucleic acids by ethylnitrosourea-1-¹⁴C in the fetal and adult rat. Cancer Res. 32: 1501-1505 (1972)
- GOTH, R., M. F. RAJEWSKY: Molecular and cellular mechanisms associated with pulse-carcinogenesis in the rat nervous system by ethylnitrosourea: Ethylation of nucleic acids and elimination rates of ethylated bases from the DNA of different tissues. Z. Krebsforsch. 82: 37-64 (1974)
- GOTH, R., M. F. RAJEWSKY: Persistence of O-6-Ethylguanine in rat-brain DNA: Correlation with nervous system-specific carcinogenesis by ENU.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 71, No. 3:
639-643 (1974a)

- GRAW, J., W. J. ZELLER, S. IVANKOVIC: Entstehung von neurogenen Malignomen bei den Nachkommen von Sprague-Dawley-Ratten nach perkutaner Applikation von Äthylnitrosoharnstoff (ÄNH) während der Tragzeit. Z. Krebsforsch. 81: 169-172 (1974)
- GROSSI-PAOLETTI, E., P. PAOLETTI, D. SCHIFFER, A. FABIANI: Experimental brain tumours induced in rats by nitrosourea derivatives. Part 2. Morphological aspects of nitrosoethylurea tumours obtained by transplacental induction. J. Neurol. Sci. 11: 573-581 (1970)
- GROSSI-PAOLETTI, E., P. PAOLETTI, S. PEZZOTTA, D. SCHIFFER, A. FABIANI: Tumors of the nervous system induced by ethyl nitrosourea administered either intracerebrally or subcutaneously to newborn rats. J. Neurosurg. 37: 580-590 (1972)
- GUERIN, M.: Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire (souris, rat, poule). Legrand, Paris 1954
- GÜTHERT, H., D. SCHREIBER, W. JÄNISCH, R. WARZOK: Experimentelle Nerventumoren bei Ratten durch Induktion mit N-methyl-N-nitrosoharnstoff. Exp. Path. 2: 370-380 (1968)
- GÜTHERT, H., R. WARZOK: Zur karzinogenen Wirkung von Methyl- und Äthyl-nitrosoharnstoff bei Ratten nach transplazentarer und postnataler Applikation. Zbl. Allg. Path. 118: 115-123 (1974)
- HANSEN, E.: Schädigung von Lebensmitteln durch Aflatoxin B. Naturwissenschaften 56: 90 (1969)
- HARDER, W. A.: Die Gliaveränderungen bei experimentellen Röntgenspät-schäden des Kaninchengehirns. Zbl. Ges. Neurol. Psychiat. 188: 391-392 (1967)
- HARRIS, H.: Cell fusion: the Dunham Lectures, Harvard University 1969 Clarendon Press, Oxford
- HAYMAKER, W., L. J. RUBINSTEIN, J. MICQUEL: Brain tumours in irradiated monkeys. Acta Neuropath. (Berlin) 20: 267-277 (1972)
- HEIDELBERGER, C.: Studies on the cellular and molecular mechanisms of hydrocarbon carcinogenesis. Europ. J. Cancer 6: 161-172 (1970)

- HERBST, A.L., H. ULFELDER, D.C. POSKANZER: Adenocarcinoma of the vagina: Association of maternal Stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. New.Engl.J.Med. 284: 878-881 (1971)
- HERROLD, K.M.D.: Induction of olfactory neuroepithelial tumours in Syrian hamsters by diethylnitrosamine. Cancer (Philad.) 17: 114 (1964)
- HOCH-LIGETI, C., D.S. RUSSELL: Primary tumours of the brain and meninges in rats fed 2-acetylaminofluorene. Acta Un.Int.Cancer. 7: 126 (1950)
- HOPEWELL, J.W., E.A. WRIGHT: The importance of implantation site in cerebral carcinogenesis in rats. Cancer Res. 29: 1927 (1969)
- HOSOBUCHI, Y.: Virus-like particles in human schwannoma. Proc.Amer.Ass.Cancer Res. 11: 38 (1970)
- HUEBNER, R.J., G.J. TODARO: Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 64: 1087-1094 (1969)
- IARC - Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. IARC Lyon; WHO. Geneva 1971
- ILFELD, F.W.: The experimental production of visceral tumors with hydrocarbons. Amer.J.Cancer 26: 743-753 (1936)
- ISHIDA, Y., S. KAWAI, K. SATO, H. NIIBE: Experimental induction of gliogenic tumours in rats. J.Med.Sci. 12: 36-72 (1963)
- ISHIDA, Y., M. TAMURA, H. KANDA, K. OKAMOTO: Histopathological studies of the nervous system tumors in rats induced by N-nitroso-methylurea. Acta Pathol.Jap. 25: 385-401 (1975)
- IVANKOVIC, S., H. DRUCKREY, R. PREUSSMANN: Erzeugung von Tumoren im peripheren und zentralen Nervensystem durch Trimethyl-nitroso-harnstoff an Ratten. Zeitschr.f.Krebsforsch. 66: 541-548 (1965)
- IVANKOVIC, S., H. DRUCKREY, R. PREUSSMANN: Erzeugung neurogener Tumoren bei den Nachkommen nach einmaliger Injektion von Äthylnitrosoharnstoff an schwangere Ratten. Naturwissenschaften 53: 410 (1966)

- IVANKOVIC, S., H. DRUCKREY: Transplacentare Erzeugung maligner Tumoren des Nervensystems. I. Äthylnitrosoharnstoff (ÄNH) an BD IX-Ratten. Z.Krebsforsch. 71: 320-360 (1968)
- IVANKOVIC, S., R. PREUSSMANN: Transplazentare Erzeugung maligner Tumoren nach oraler Gabe von Äthylharnstoff und Nitrit an Ratten. Naturwissenschaften 57: 460 (1970)
- JACOB, F., J. MONOD: On the regulation of gene activity. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 26: 193-209 (1961)
- JÄNISCH, W.: Die Induktion von experimentellen Hirngeschwülsten mit cancerogenen Kohlenwasserstoffen. Z.Krebsforsch. 68: 224-233 (1966)
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER: Neuroektodermale Hirngeschwülste als Todesursache bei Neugeborenen und Säuglingen. Zbl.Allg.Pathol. 109: 170-175 (1964)
- JÄNISCH, W., M. KIRSCH: Tierversuche zur Induktion von intrakraniellen Geschwülsten durch ionisierende Strahlen. Exp.Path. 1: 226-233 (1967)
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER, R. STENGEL, V. STEFFEN: Die Induktion von experimentellen Hirngeschwülsten bei Ratten mit MNH. Exp.Path. 1: 243-255 (1967)
- JÄNISCH, W., F. FENNWARTH, A. LAGEMANN, A. PETERMANN: Zur Epidemiologie der Geschwülste des Zentralnervensystems. Dtsch.Zeitschr.f.Nervenheilk. 191: 80-90 (1967)
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER: Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1969
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER, R. WARTOK, J. OSSKE: Frühstadien von Geschwülsten des Zentralnervensystems. Experimentell-morphologische Untersuchung. Exp.Path. 4: 60-68 (1970)
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER, R. WARTOK, J. SCHNEIDER: Die transplazentare Induktion von Geschwülsten des Nervensystems. Vergleichende Untersuchung der Wirksamkeit von Methyl- und Äthylnitrosoharnstoff. Arch.Geschwulstforsch. 39: 99-106 (1973)

- JENTZER, A.: Premiers résultats d'application expérimentale de cobalt 60 dans le lobe frontal du lapin. *Confin. Neurol.* 19: 264-269 (1959)
- JOHNSON, H.A., W.E. HAYMAKER, J.R. RUBINI, T.M. FLIEDNER, V.P. BOND, E.P. CRONKITE, W.L. HUGHES: A radioautographic study of a human brain and Glioblastoma multiforme after the in vivo uptake of tritiated thymidine. *Cancer* 13: 636-642 (1960)
- JONES, E.L., C.E. SEARLE, T.W. SMITH: Tumours of the nervous system induced in rats by the neonatal administration of N-ethyl-N-nitrosourea. *J. Pathol.* 109: 123-139 (1973)
- JUNG, S.: Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere. Gustav Fischer-Verlag, 1962
- KAWAI, S.: Experimental studies on brain tumours. *Acta Pathol. Jap./Suppl.* 9: 707-722 (1959)
- KELLY, M.G., R.W. O'GARA, S.T. YANCEY, C. BOTKIN: Carcinogenicity of 1-methyl-1-nitrosourea in newborn mice and rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 41: 619-626 (1968)
- KERSTING, G.: Entstehung und Wachstum der Gliome (Gewebszüchtung und Tierexperiment). *Acta Neurochir.* 13: 315-316 (1965)
- KERSTING, G.: Die Großhirngeschwülste des Kindesalters (eine vergleichende Gewebekulturuntersuchung). *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 55: 311-314 (1971)
- KLEIHUES, P.: Untersuchungen über die Wirkung des Carcinogens N-Methyl-N-nitrosourea auf die Nukleinsäure-Synthese in vivo. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 53: 554-559 (1969a)
- KLEIHUES, P., S. MATSUMOTO, W. WECHSLER, K.J. ZÜLCH: Morphologie und Wachstum der mit Ethylnitrosourea transplazentar erzeugten Tumoren des Nervensystems. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 52: 372-380 (1968)
- KLEIHUES, P., K.J. ZÜLCH, S. MATSUMOTO, U. RADKE: Morphology of malignant gliomas induced in rabbits by systemic application of N-methyl-N-nitrosourea. *Z. Neurol.* 198: 65-78 (1970b)

- KLEIHUES, P., K. PATZSCHKE: Verteilung von N-(^{14}C) Methyl-N-nitrosourea in der Ratte nach systemischer Applikation.
Z. Krebsforsch. 75: 193-200 (1971)
- KLEIHUES, P., G. P. MARGISON: Carcinogenicity of N-methyl-n-nitrosourea: Possible role of excision repair of O-6-methylguanine from DNA.
J. Natl. Cancer Inst. 53: 1839-1841 (1974)
- KLEIN, M., E. K. WEISBURGER: Carcinogenic effect of N-hydroxy -N-2-fluorenylacetamide, 2',4'-dimethyl-acetanilide and 2',4',6'-trimethylacetanilide on liver in suckling mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 122: 111 (1966)
- KOESTNER, A., J. A. SWENBERG, W. WECHSLER: Transplacental production with ethylnitrosourea of neoplasms of the nervous system in Sprague-Dawley rats.
American J. Pathol. 63: 37-56 (1971)
- KOESTNER, A., J. A. SWENBERG, W. WECHSLER: Experimental tumors of the nervous system induced by resorptive N-nitroso compounds.
Progr. Exp. Tumor Res. 17: 9-30 (1972)
- KUPFER, G. u. M.: Über verschiedene Wirkungen von N-methyl-N-nitrosourea bei Ratten.
Zbl. Allg. Path. 114: 447-457 (1971)
- KURLAND, L. T.: Geography of neural tumors.
In: J. Minckler (ed): Pathology of the nervous system. Vol. III; N.Y., Mac Graw Hill (1971)
- KURY, G., H. W. CARTER: Autoradiographic study of human nervous system tumors.
Arch. Path. 80: 38-42 (1965)
- LANTOS, P. L.: The effect of a single dose of N-ethyl-n-nitrosourea on the fine structure of the brain of the rat.
Experientia 27: 1322-1323 (1971)
- LANTOS, P. L.: The fine structure of periventricular pleomorphic gliomas induced transplacentally by N-ethyl-n-nitrosourea in BD-IX-rats. With a note on their origin. J. Neurol. Sci. 17: 443-460 (1972)

- LANTOS,P.L.: Virus-like particles in brain tumours induced by
N-ethyl-n-nitrosourea in rats.
Acta Neuropathol.(Berlin) 29 (3): 211-222
(1974)
- LANTOS,P.L.: The role of the subependymal plate in the origin of
gliomas, induced by ethylnitrosourea in the rat brain.
Experientia 33: 521-522 (1977)
- LANTOS,P.L., D.J.COX: The origin of experimental brain tumours.:
A sequential study. Experientia 32: 1467-1468 (1976)
- LANTOS,P.L., G.J.PILKINGTON: The development of experimental brain
tumours. - A sequential light and electron microscope study of
the subependymal plate. I.Early lesions.
Acta Neuropathol. 45: 167-175 (1979)
- LAQUEUR,G.L., M.SPATZ: Toxicology of Cycasin. Cancer Res.28: 2262-2267
(1968)
- LARSEN,C.D.: Pulmonary tumor induction by transplacental exposure
to urethane. J.Natl.Cancer Inst. 8: 63-69 (1947)
- LEE,J.C.: Direct transplantation of intracranial tumors.
Anat. Rec. 160: 481 (1968)
- LEWIS,P.D.: A quantitative study of cell proliferation in the subepen-
dymal layer of the adult rat brain. Exp.Neurol. 20: 203-207 (1968)
- LEWIS,P.D.: Mitotic activity in the primate subependymal layer and the
genesis of gliomas. Nature 217: 974-975 (1968a)
- LEWIS,P.D., MABEL LAI: Possible long-term effects of N-ethyl-n-nitroso-
urea on cell division in the rat subependymal layer.
Neurobiology 4: 253-256 (1974)
- LOVELESS,A.: Possible relevance of O-6-alkylation of deoxyguanosine to
mutagenicity of nitrosamines and nitrosamides.
Nature (London) 223: 206-207 (1969)
- LUGINBÜHL,H., R.FANKHAUSER, J.T.McGRATH: Spontaneous neoplasms of the
nervous system in animals. Progr.Neurol.Surg., Vol. 2: 85-164;
Karger, Basel and Year Book,
Chicago 1968

- MACKENZIE, W.F., F.M. GARNER: Comparison of neoplasms in six sources of rats. J. Natl. Cancer Inst. 50: 1243-1257 (1973)
- MAGEE, P.N.: In vivo reactions of nitroso compounds. Annals N.Y. Acad. Sci. 163: 717-730 (1969)
- MAGEE, P.N., J.M. BARNES: The production of primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. Br. J. Cancer 10: 114 (1956)
- MAGEE, P.N., R. SCHOENTAL: Carcinogenesis by nitroso compounds. Brit. Med. Bull. 20 (2): 102-106 (1964)
- MANCUSO, T.F.: Tumors of the central nervous system. Industrial considerations. Acta Un. Int. Cancr. 19: 488-489 (1963)
- MARGISON, G.P., P. KLEIHUES: Preferential accumulation of O-6-methyl-guanine in rat brain deoxyribonucleic acid during repetitive administration of N-methyl-N-nitrosourea. Biochem. J. 148: 521-525 (1975)
- MAURER, W.: Grundlagen und Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen. - F. Autoradiographie. / Handbuch der Neurochirurgie. - Grundlagen I (1959) S. 648-658
- MAWDESLEY-THOMAS, L.E., A.J. NEWMAN: Some observations on spontaneously occurring tumours of the CNS of Sprague-Dawley derived rats. J. Path. 112: 107-116 (1974)
- MENNEL, H.D., K.J. ZÜLCH: Die Morphologie maligner Tumoren des peripheren Nervensystems. Z. Neurochir. 32: 11 (1971)
- MENNEL, H.D., K. SATO, K.J. ZÜLCH: Traumatische Regeneration und Resorptivkanzerogenese am Zentralnervensystem. Acta Neurochir. 25: 197-206 (1971a)
- MENNEL, H.D., K.J. ZÜLCH: Formale Pathogenese experimenteller Hirntumoren. Acta Neuropath. (Berlin) 21: 140-153 (1972)
- MILLER, R.W.: Prenatal origins of cancer in man: Epidemiological evidence. In: Transplacental carcinogenesis. IARC Scientific Publications No. 4, L. Tomatis, U. Mohr (eds.), Lyon 1973a

- NAPALKOV, N.P., V.A.ALEXANDROV: On the effects of blastomogenic substances on the organism during embryogenesis.
Z.Krebsforsch. 71: 32-50 (1968)
- NETSKY, M.G., J.SHAPIRO, M.HOFFMAN, B.CORSENTINO, J.R.FREID, H.M.ZIMMERMAN:
The effect of single doses of Roentgen radiation on experimentally induced gliomas.
Amer.J.Roentgenol. 76: 351-366 (1956)
- NEWMAN, A.J., LE.MAWDESLEY-THOMAS: Spontaneous tumours of the central nervous system of laboratory rats. J.Comp.Path. 84: 39-50 (1974)
- OBERLING, Ch., M.GUERIN, P.GUERIN: La production expérimentale de tumeurs hypophysaires chez le rat.
Compt.Rend.Soc.Biol.(Paris) 123: 1152-1154 (1936)
- OEHLERT, W.: Cellular proliferation in carcinogenesis.
Cell Tissue Kinet. 6: 325-335 (1973)
- OKAWA, K., K.HAMAYA, Y.FUYII, K.MATSURA: Tumor induction by adenovirus type 12 and its target cell in the central nervous system.
Gann 60: 383-392 (1969)
- OSSKE, G.: Die endogene Bildung von kanzerogenen N-Nitrosoverbindungen. - Eine mögliche Ursache menschlicher Geschwülste ?
Arch.Geschwulstforsch. 39: 62-69 (1972a)
- OSSKE, G., R.WARZOK, J.SCHNEIDER: Diaplazentare Tumorinduktion durch endogen gebildeten N-Äthyl-N-nitrosoharnstoff bei Ratten.
Arch.Geschwulstforsch. 40: 244-247 (1972)
- PEERS, J.H.: The response of the central nervous system to the application of carcinogenic hydrocarbons. - I. Dibenzanthracene. - II. Methylcholanthrene. Amer.J.Path. 15: 261 (1939) / 16: 799 (1940)
- PEIFFER, J.: Über die metachromatischen Leukodystrophien (Typ Scholz).
Archiv f.Psych.u.Zeitschr.f.d.ges.Neurologie 199: 386-416 (1959)
- PIETRA, G., K.SPENCER, P.SHUBIK: Response of newly born mice to a chemical carcinogen. Nature (London) 183: 1689 (1959)

- PILKINGTON, G.J., P.L. LANTOS: The development of experimental brain tumours. - A sequential light and electron microscope study of the subependymal plate. II. M i c r o t u m o u r s .
Acta Neuropathol. 45: 177-185 (1979)
- PITOT, H.C., C. HEIDELBERGER: Metabolic regulatory circuits and carcinogenesis.
Cancer Res. 23: 1694-1700 (1963)
- PREUSSMANN, R.: Molekulare Aspekte der Carcinogenese.
Langenbecks Arch. Chir. 329: 286-293 (1971)
- RABOTTI, G.F.: Oncogenic effects of Rous sarcoma virus, strain CT 559, in dogs.
Symp. Zool. Soc. Lond., Nr. 17.
Academic Press, London-New York 1966
- RABOTTI, G.F.: Experimental intracranial tumors of viral etiology. -
In: W.M. Kirsch, E. Grossi-Paoletti and P. Paoletti (eds.):
The experimental biology of brain tumors, pp. 148-180;
. Springfield: Ch. C. Thomas, 1972
- RABOTTI, G.F., W.A. RAINE: Brain tumours induced in hamsters inoculated intracerebrally at birth with Rous-Sarcoma-Virus.
Nature (London) 204: 898-899 (1964)
- RABSON, A.S., R.L. KIRSCHSTEIN: Intracranial sarcomas produced by Polyoma virus in Syrian hamsters. Arch. Path. 69: 663-671 (1960)
- RAJEWSKY, M.F.: Zellzyklus, Cancerogenese und Tumorthherapie.
Köln Symposium 1972: Autoreferat zum Thema: Induktion von Tumoren des Nervensystems durch alkylierende Substanzen.
- RAJEWSKY, M.F.: Proliferative parameters of mammalian cell systems and their role in tumor growth and carcinogenesis.
Z. Krebsforsch. 78: 12-30 (1972a)
- RAJEWSKY, M.F.: Molekulare und zelluläre Vorgänge bei der chemischen Kanzerogenese.
Münch. Med. Wochenschr. 119: 1570 (1977)
- RAMADAN, M.A., W. WECHSLER: Transplacental induction of neurogenic tumors in BD IX rats by intragastric administration of ENU precursors.
Z. Krebsforsch. 84: 177-187 (1975)

- RIBACCHI, R., G. GIRALDO: Intracranial tumours in rats injected intracerebrally with murine sarcoma virus (MSV), Moloney's strain. Preliminary report. Lav. Ist. Anat. Univ. Perugia 26: 141-148 (1966)
- RICE, J.M.: Transplacental carcinogenesis in mice by ENU. Annals N.Y. Acad. Sci. 163: 813-827 (1969)
- RICE, J.M.: An overview of transplacental chemical carcinogenesis. Teratology 8: 113-125 (1973)
- ROUSSY, G., Ch. OBERLING, C. RAILEANU: Lésions expérimentales des centres nerveux provoquées par application locale de goudron. Compt. Rend. Soc. Biol. (Paris) 104: 762-764 (1930)
- RUSSELL, W.C.: The response of the central nervous system of the rat to methylcholanthrene. 1. The induction of tumors derived from nervous tissue. Cancer Res. 5: 140-151 (1945)
- SANDER, J.: Untersuchungen über die Entstehung cancerogener Nitrosoverbindungen im Magen von Versuchstieren und ihre Bedeutung für den Menschen. Arzneimittelforsch. 21: 1572-1580 (1971)
- SANDER, J.: Die Bedeutung von Nitrat, Nitrit und Aminen im Wasser für die Bildung krebserzeugender N-Nitrosoverbindungen. Schr. Reihe Ver. Was.-Boden-Lufthyg. 40: 67-78 (1973)
- SCHIEFER, B.: Über experimentelle Erzeugung von Gehirntumoren mit Methylcholanthren. Zbl. Neurochir. 18: 360-375 (1958)
- SCHIEFER, B.: Zur Morphologie experimenteller Hirntumoren. Acta Neuropathol./Suppl. I, 19-25 (1962)
- SCHIEFER, B.: Morphology of experimental brain tumors. Acta Neurochir. 10 / Suppl. 57-63 (1964)
- SCHIEFER, W., B. HASENBEIN, H. SCHMIDT: Multicentric glioblastomas. Methods of diagnosis and treatment. Acta Neurochir. 42: 89-95 (1978)

- SCHIFFER,D.: On the occurrence of oligodendroglia-like areas in neurinomas experimentally induced in the rat by nitrosourea derivatives. J.Neurol.Sci. 19: 45-52 (1973)
- SCHIFFER,D., A.FABIANI, E.GROSSI-PAOLETTI, P.PAOLETTI: Tumori cerebrali sperimentali del ratto da derivati della Nitrosourea. Considerazioni patogenetiche sui gliomi misti e polimorfi. Tumori 57: 333-342 (1971)
- SCHIFFER,D., M.T.GIORDANA, S.PEZZOTTA, C.LECHNER, P.PAOLETTI: Cerebral tumors induced by transplacental Ethylnitrosourea. Study of the different tumoral stages, particularly of early proliferations. Acta Neuropathol. 41: 27-31 (1978)
- SCHMÄHL,D.: Zur kausalen Genese maligner Geschwülste. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.-u.Kehlk.Heilk. 205: 1-20 (1973)
- SCHMÄHL,D., H.OSSWALD: Experimentelle Untersuchungen über carcinogene Wirkungen von Krebs-Chemotherapeutica und Immunsuppressiva. Arzneimittelforsch. 20: 1461-1467 (1970)
- SCHMÄHL,D., D.MUNDT, K.G.SCHMIDT: Experimental investigations on the influence upon the chemical carcinogenesis. 1st Communication: Studies with Ethylnitrosourea. Z.Krebsforsch. 82: 91-100 (1974)
- SCHMIDKE,H.H., S.L.NIELSEN, A.L.SCHILLER, J.MESSER: Morphological studies of rat brain tumors induced by N-nitrosomethylurea. J.Neurosurg. 34: 335-340 (1971)
- SCHOENTAL,R.: Lack of correlation between the presence of 7-methyl-guanine in DNA and RNA of organs and the localization of tumours after a single carcinogenic dose of N-methyl-n-nitrosourethane. Biochem.J. 114: 55P-56P (1969)
- SCHREIBER,D., W.JÄNISCH, F.RATH: Zur Klassifikation experimenteller Hirntumoren. Exp.Path. 13: 3-10 (1977)
- SEARLE,C.E., E.L.JONES, W.T.SMITH: Induction of brain tumours in high yield by administration of N-ethyl-N-nitrosourea to newborn rats. Experientia 28: 1452-1453 (1972)

SEARLE, C.E., E.L.JONES: Strain differences in the carcinogenic action of N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) in mice.

Br.J.Cancer 30: 181 (1974)

SEARLE, C.E., E.L.JONES: The multipotential carcinogenic action of N-ethyl-N-nitrosourea administered neonatally to mice.

Br.J.Cancer 32: 612-625 (1976)

SELIGMAN, A.M., M.J.SHEAR, L.ALEXANDER: Studies in carcinogenesis. - VIII. Experimental production of brain tumours in mice with methylcholanthrene.

Amer.J.Cancer 37: 364 (1939)

SHAPIRO, W.R.: Studies on the chemotherapy of experimental brain tumors: Evaluation of 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea, vincristine, and 5-fluorouracil. J.Natl.Cancer Inst. 46: 359-368 (1971)

SHAPIRO, W.R., J.I.AUSMAN, D.P.RALL: Studies on the chemotherapy of experimental brain tumors: Evaluation of 1,3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea, cyclophosphamide, mithramycin, and methotrexate.

Cancer Res. 30: 2401-2413 (1970)

SMART, J.: The subependymal layer of the mouse brain and its cell production as shown by radioautography after Thymidine- H^3 injection.

J.Comp.Neurol. 116: 325-347 (1961)

SMITH, W.E., P.ROUS: The neoplastic potentialities of mouse embryo tissues. IV. Lung adenomas in baby mice as result of prenatal exposure to urethane.

J.Exp.Med. 88: 529-554 (1948)

SNELL, K.C., H.L.STEWART, H.P.MORRIS, B.P.WAGNER, F.E.RAY: Intracranial neurilemmoma and medulloblastoma induced in rats by the dietary administration of N,N'-2,7-fluorenylbisacetamide.

Natl.Cancer Inst.Monogr. 5: 85 (1961)

STAVROU, D.: Beitrag zur Morphologie und Enzymhistochemie experimenteller Tumoren des Zentralnervensystems der Ratte.

Acta Neuropathol. 15: 220-239 (1970)

STAVROU, D.: Zur vergleichenden Pathologie der Tumoren des Nervensystems. Eine morphologische und enzymhistochemische Studie an spontanen bzw. experimentellen Tumoren des Nervensystems verschiedener Tierspezies sowie vergleichbaren Tumoren des Menschen.

Zbl.Vet.Med.A, 18: 585-628 (1971)

STROOBANDT, G., J.M.BRUCHER: Etude de tumeurs nerveuses obtenues
par l'administration de méthylnitrosouree au rat.

Neuro-chirurgie (Paris) 14: 515-535
(1968)

SÜSS,R., V.KINZEL, J.D.SCRIBNER: Krebs.-Experimente und Denkmodelle.
Springer-Verl.(Berlin,Heidelberg,New York)
1970

SWENBERG,J.A., A.KOESTNER, W.WECHSLER: The induction of tumors of the
nervous system in rats with intravenous methylnitrosourea (MNU).
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 30:122(1971)

SWENBERG,J.A., A.KOESTNER,W.WECHSLER, R.H.DENLINGER: Quantitative
aspects of transplacental tumor induction with Ethylnitrosourea
in rats. Cancer Res. 32: 2656-2660 (1972a)

SWENBERG,J.A., W.WECHSLER, A.KOESTNER: The sequential development
of transplacentally induced neuroectodermal tumors.
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 31:202-203
(1972b)

SWENBERG,J.A., A.KOESTNER, W.WECHSLER: The induction of tumors of
the nervous system with intravenous methylnitrosourea.
Lab.Invest. 26: 74-85 (1972c)

SWENBERG,J.A., N.CLENDENON, R.DENLINGER, W.A.GORDON: Sequential de-
velopment of Ethylnitrosourea-induced neurinomas: Morphology,
biochemistry, and transplantability.
J.Natl.Cancer Inst. 55: 147-152(1975)

TAOMOTO,K.: Experimental brain tumors produced transplacentally by
Ethylnitrosourea. - Morphological and chronological studies of
so-called "Microtumors" -. Brain and Nerve 28: 1319-1326 (1976)

TAOMOTO,K.: Experimental brain tumors produced transplacentally by
Ethylnitrosourea (III). - Autoradiographic studies on the
tumor cell proliferation. Brain and Nerve 29: 433-441 (1977)

THOMAS,C., G.KERSTING: Zur Morphologie der durch Methylnitrosoharn-
stoff erzeugten Hirntumoren bei der Ratte.

Naturwissenschaften 51: 144-145(1964)

- THOMAS,C., J.L.SIERRA, G.KERSTING: Hirntumoren bei Ratten nach oraler Gabe von N-nitroso-N-methyl-harnstoff.
Naturwissenschaften 54: 228 (1967)
- THOMAS,C., G.KERSTING: Pathomorphologische Vergleichsuntersuchungen diaplazentar und postnatal erzeugter Hirntumoren.
Verh.Dtsch.Ges.Pathol. 52: 384-388 (1968)
- TOMATIS,L., J.HILFRICH, V.TURUSOV: The occurrence of tumours in F₁, F₂ and F₃ descendants of BD rats exposed to N-nitroso-methylurea during pregnancy. Int.J.Cancer 15: 385-390 (1975)
- TOMATIS,L., V.PONOMARKOV, V.TURUSOV: Effects of Ethylnitrosourea administration during pregnancy on three subsequent generations of BD VI rats. Int.J.Cancer 19: 240-248 (1977)
- TOTH,B., P.N.MAGEE, P.SHUBIK: Carcinogenesis study with dimethylnitrosamine administered orally to adult and subcutaneously to newborn BALB/c mice. Cancer Res. 24: 1712 (1964)
- VANDEPUTTE,M., J.M.BRUCHER: Sarcomatose méningée expérimentale provoquée chez le rat par le virus polyome.
Acta Neuropath.(Berlin) 1: 397-405 (1962)
- VASQUEZ-LOPEZ,E.: On the growth of Rous sarcoma-virus inoculated into the brain. Amer.J.Cancer 26: 29-55 (1936)
- VASQUEZ-LOPEZ,E.: Glioma in a rat fed with 2-acetylaminofluorene. Nature (London) 156: 296 (1945)
- VESELINOVITCH,S.D., L.S.LOMBARD: Broad spectrum carcinogenicity of ethylnitrosourea in the newborn and infant mice.
Proc.Amer.Ass.Cancer Res. 12: 56 (1971)
- VICK,N.A., D.D.BIGNER, J.P.KVEDAR: The fine structure of canine gliomas and intracranial sarcomas induced by the Schmidt-Ruppin strain of the Rous sarcoma virus.
J.Neuropath.Exp.Neurol. 30: 354 (1971)

- WALDBAUR, H., H. SCHMIDT, U. ENGELMANN: Intracerebral transplantation of chemically induced gliomas in rats. - A brain tumor model in animal experiment. *Advances in Neurosurg.* 2: 318-321 (1975)
- WALDBAUR, H.: Neurogene Tumoren im Tierexperiment.
Münch. Med. Wochenschr. 118: 1257 (1976)
- WALDBAUR, H., H. KUSCHNIR, U. ENGELMANN, H. SCHMIDT, B. SCHMACK: Experiments on the chemotherapy of a transplantable glioblastoma in the rat, employing 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU).
Acta Neurochir. 42: 103-108 (1978)
- WARZOK, R., D. PÖTZSCH, F. HENNING, R. HEIDERSTÄDT: Induktion von Geschwülsten des Nervensystems durch Applikation von Methyl- und Äthyl-nitrosoharnstoff an neugeborene Ratten. Vergleichende Untersuchung.
Zbl. Allg. Path. 116: 551-555 (1972)
- WARZOK, R., J. SCHNEIDER, R. THUST, P. SCHOLTZE, D. PÖTZSCH: Zur transplantaren Tumorinduktion durch N-Äthyl-N-nitrosoharnstoff bei verschiedenen Tierarten. *Zbl. Allg. Path. u. Pathol. Anat.* 121: 54-60 (1977)
- WECHSLER, W.: Zur Pathogenese der Tumoren des Nervensystems im Kindes- u. Jugendalter. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 55: 305-311 (1971)
- WECHSLER, W., P. KLEIHUES, S. MATSUMOTO, K. J. ZÜLCH, S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN, H. DRUCKREY: Pathology of experimental neurogenic tumors chemically induced during prenatal and postnatal life.
Annals N.Y. Acad. Sci. 159: 360-405 (1969)
- WECHSLER, W., J. M. RICE, S. D. VESSELINOVITCH, T. ARAI: Perinatale Tumorinduktion mit Äthylnitrosoharnstoff: Ein Beitrag zur Frage der Organotropie alkylierender Resorptivkanzerogene bei verschiedenen Mäusestämmen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 58: 546 (1974)
- WEIL, A.: Experimental production of tumors in the brain of white rats. *Arch. Pathol.* 26: 777 (1938)
- WEISS, A. u. B.: Glioblastom und Neurofibrom nach Lost-Einwirkung.
Münch. Med. Wochenschr. 118: 875-878 (1976)
- WENDE, S.: Sarkom der Schädelkalotte nach Röntgentherapie.
Fortsch. Röntgenstr. 96: 278 (1962)

- WILSON, C.B., T.HOSHINO, M.BARKER, R.DOWNEY: Kinetics of gliomas
in rat and man. Progr.Exp.Tumor Res. 17: 363-372 (1972)
- WOLFF, J.A., A.E.WASSERMAN: Nitrates, Nitrites, and Nitrosamines.
Science 177: 15-19 (1972)
- ZIMMERMAN, H.M.: The nature of gliomas as revealed by animal
experimentation. Amer.J.Path. 31: 1-29 (1955)
- ZIMMERMAN, H.M.: The histopathology of experimental "Medulloblastoma".
Acta Neuropath. 8: 69-75 (1967)
- ZIMMERMAN, H.M.: Brain tumors: Their incidence and classification
in man and their experimental production. Annals N.Y.Acad.Sci. 159: 337-359
(1969)
- ZIMMERMAN, H.M., H.ARNOLD: Experimental brain tumors: I. Tumors produced
with methylcholanthrene. Cancer Res. 1: 919-938 (1941)
- ZIMMERMAN, H.M., A.ARNOLD: Experimental brain tumors. - II. Tumors pro-
duced with benzpyrene. Amer.J.Path. 19: 939-955 (1943)
- ZÜLCH, K.J.: Über die primären Hirnsarkome.
Arch.Int.Studi.Neurol. 2: 1 (1953)
- ZÜLCH, K.J.: Gibt es Beziehungen in den Befunden der experimentellen
und spontanen neurogenen Tumoren ? Arzneimittelforsch. 19: 1503-1508
(1969)
- ZÜLCH, K.J.: Gehirntumor und Trauma. Hefte zur Unfallheilkunde 107:
33-44 (1971)
- ZÜLCH, K.J., W.WECHSLER: Pathology and classification of gliomas.
Progr.NeurolSurg. Vol.2: 1-84 Karger, Basel
and Year Book, Chicago 1968
- ZÜLCH, K.J., H.D.MENNEL: Die Morphologie der durch alkylierende Sub-
stanzen erzeugten Tumoren des Nervensystems. Zbl.Neurochir. 32: 225-243 (1971a)

Mein besonderer Dank gilt
Herrn Privatdozent Dr. H.Waldbaur.

Durch ihn erfolgte die Anregung zu
dieser Arbeit, deren Ausführung ohne
seine unermüdliche Unterstützung
und seinen stets hilfreichen Rat
nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf:

Am 19.Juni 1951 wurde ich als Sohn des kaufm. Angestellten Heinz Albert und seiner Ehefrau Anneliese, geborene Schmidt, in Lauf a.d.Pegn. geboren.

Im September 1957 trat ich in die Volksschule meines Heimatortes Rückersdorf/Kreis Nürnberger Land ein, welche ich bis zum Herbst 1962 besuchte. Dann wechselte ich auf das Richard-Willstätter-Gymnasium in Nürnberg über, wo ich im Juni 1971 die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Wintersemester desselben Jahres nahm ich das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg auf. Nach dem Sommersemester 1972 bestand ich den naturwissenschaftlichen Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung und nach dem Sommersemester 1973 die Ärztliche Vorprüfung.

Im August 1974 legte ich an derselben Universität den 1.Abschnitt, im August 1976 den 2.Abschnitt und im Oktober 1977 den 3.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung erfolgreich ab.

Am 27.Oktober 1977 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt. Seit dem 1.Nov.1977 arbeite ich als Assistent an der Neurochirurgischen Universitätsklinik Erlangen.

Am 23.5.1975 heiratete ich die Lehrerin Regine Niedermaier. Seit dem 14.9.1979 sind wir Eltern eines Sohnes.

Druck: Offsetdruckerei Karl Döres, 8520 Erlangen, Jägerstr. 3, Inh. B. Lengenfelder